

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

ANNÉE 1929

THÈSE

N° 34

POUR

LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1929

PAR **Octave PAIREMAURE**

Né le 23 Décembre 1905, à Genouillac (Creuse)

ETUDE EXPÉRIMENTALE SUR LA MORVE

NOUVELLES RELATIONS

entre la Morve et la Mélioïdose

JURY { *Président* : M. LEMIERRE, professeur à la Faculté de Médecine.
 { M. PANISSET
 { *Assesseurs* : M. ROBIN } professeurs à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

LA ROCHELLE

IMPRIMERIE E. MARTIN, 9, RUE SAINT-LÉONARD

1929

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

ANNÉE 1929

THÈSE

N°

34

POUR

LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1929

PAR **Octave PAIREMAURE**

Né le 23 Décembre 1905, à Genouillac (Creuse)

ETUDE EXPERIMENTALE SUR LA MORVE

NOUVELLES RELATIONS

entre la Morve et la Mélioïdose

JURY { *Président* : M. LEMIERRE, professeur à la Faculté de Médecine.
 { *Assesseurs* : M. PANISSET }
 M. ROBIN } professeurs à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

LA ROCHELLE

IMPRIMERIE E. MARTIN, 9, RUE SAINT-LÉONARD

1929

Personnel enseignant de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort

Directeurs honoraires : MM. P.-J. CADIOT et H. VALLÉE

Directeur : M. E. NICOLAS

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général honoraire des Ecoles Vétérinaires, P. J. CADIOT, A. RAILLIET, H. VALLÉE

PROFESSEURS ET CHARGÉS DE COURS

	MM
Anatomie descriptive des animaux domestiques ...	BRESSOU.
Physiologie, thérapeutique générale.....	MAIGNON
Physique et Chimie médicales, toxicologie pharmacie.....	NICOLAS.
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique ; Zoologie.....	HENRY.
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, clinique ; sémiologie et propédeutique, jurisprudence.....	ROBIN.
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, clinique ; anatomie chirurgicale, médecine opératoire et ferrure.....	COQUOT .
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique ; médecine opératoire, obstétrique.....	MOUSSU
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique	PANISSET.
Histologie et embryologie, anatomie pathologique ; autopsies.....	PETIT
Zootéchnie et économie rurale	DECHAMBRE
Agronomie, botanique et hygiène ; matière médicale.	DECHAMBRE &
Industrie et contrôle des produits d'origine animale.	HENRY.
	VERGE.



AGRÉGÉS

MM. LESBOUYRIES - VERGE.

CHEFS DE TRAVAUX

MM. DELMER.
LESBOUYRIES.

MM. MONVOISIN.
MOUSSU (R).

M. VERGE.

A MON PÈRE, A MA MÈRE

Faible témoignage de ma profonde affection.

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A Monsieur VERGE

Agrégé

Chef de Travaux à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort

Notre maître qui nous guida dans ce travail ; remerciements sincères et reconnaissants.

A Monsieur URBAIN

Docteur-Vétérinaire

Docteur es-Science

Directeur du Laboratoire Militaire
des Recherches Vétérinaires

En témoignage de notre profonde gratitude. L'accueil cordial qu'il nous réserva dans son laboratoire et ses précieux conseils ont grandement facilité notre tâche.

A Monsieur le Professeur PANISSET

de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort

Hommage de respectueuse reconnaissance
et remerciements pour le bienveillant
accueil qu'il nous fit dans son laboratoire.

A Monsieur le Professeur ROBIN

de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort

Témoignage de haute estime.

A MES MAITRES

A Monsieur le Professeur LEMIERRE

de la Faculté de Médecine de Paris

Pour le grand honneur qu'il nous a
fait en acceptant la présidence de cette
thèse.

PLAN

.....

INTRODUCTION.

PREMIÈRE PARTIE

Etude expérimentale sur la morve

CHAP. I. — *La Malleine.*

A. — Les divers modes de malléination.

B. — Essai d'un nouveau mode de malléination :

Malléination hypodermique seconde par injection d'une double dose.

C. — Mobilisation de *bacillus malléi* dans le sang de cheval morveux sous l'influence des injections de malleine.

CHAP. II. — *La Réaction de Fixation dans la Morve.*

A. — Historique et Généralités.

B. — Principe.

C. — Préparation et titrage des éléments de la réaction.

D. — Technique *Besredka*.

CHAP. III. — *Malléinations et anticorps morveux.*

CHAP. IV. — *Valeur comparée de la malleine et de la réaction de fixation dans la recherche de la morve.*

CHAP. V. — *Observations.*

DEUXIÈME PARTIE

Morve et Mélioïdose

CHAP. I. — La réaction de fixation dans la morve, au moyen de l'antigène à *Bacillus Whitmori*.

CHAP. II. — Les réactions de l'organisme équin, morveux ou non, aux injections de Whitmorine.

CONCLUSIONS.

BIBLIOGRAPHIE.

INTRODUCTION

La morve est une maladie contagieuse, inoculable, due à la pullulation d'un bacille spécifique dans l'organisme ; elle est caractérisée anatomiquement par la production de tubercules dans les parenchymes et d'ulcérations sur la peau et les muqueuses (NOCARD et LECLAINCHE). Ce processus, à marche presque toujours inexorable, sévit surtout chez les solipèdes, mais peut atteindre de nombreuses espèces animales, dont l'homme. Il importe donc que son diagnostic soit établi d'une façon certaine et absolue.

Le polymorphisme, rencontré dans l'évolution de la diathèse morvo-farcineuse, rend ce diagnostic souvent délicat, parfois même impossible, par les seuls moyens dont dispose la clinique : il existe, en effet, des formes occultes de morve et c'est leur connaissance qui faisait écrire à NOCARD et LECLAINCHE : « L'analyse des signes cliniques de la morve permet de reconnaître certaines formes seulement. »

Cette insuffisance des méthodes d'observation montre tout l'intérêt des procédés expérimentaux de diagnostic.

Après la découverte de la malléine et de ses merveilleuses propriétés, on crut un instant posséder un moyen de recherche sûr et univoque. Mais, bientôt, à côté de réactions d'interprétation difficile, quelques défaillances étaient signalées.

Puis on appliqua à la morve des procédés sérologiques de diagnostic, dont on avait constaté les bons résultats quelques années auparavant en médecine humaine, dans la tuberculose et la syphilis notamment : ce sont les réactions d'agglutination, de précipitation et surtout de déviation du complément.

Alors, nous trouvons dans la littérature vétérinaire des opinions diverses, les unes en faveur de la supériorité

de la malléine, les autres préconisant certains procédés de séro-diagnostic. C'est ainsi que dans les quelques années qui précédèrent la guerre 1914-1918, tandis que la malléination restait le procédé diagnostique réglementaire de l'armée française, en Allemagne, Autriche, Russie, la recherche de la morve par la réaction de fixation de l'alexine était obligatoire.

La difficulté de faire un choix entre ces deux méthodes nous a conduit à les étudier comparativement.

Nous avons, en outre, fait quelques recherches sur un procédé particulier de malléination, sur la mobilisation des bacilles dans le sang en provoquant une réaction de l'organisme malade et sur la résistance des anticorps morveux au froid et aux antiseptiques, en vue de la conservation du sérum suspect.

Enfin, dans une seconde partie de cette thèse, nous avons consigné le résultat d'expériences, faites avec M. VERGE, tendant à établir de nouvelles relations entre la morve et la mélioïdose.

Avant d'aborder notre thèse, il nous est particulièrement agréable d'exprimer notre profonde reconnaissance à notre maître, M. VERGE, l'inspirateur et le guide précieux de ce travail, et notre sincère gratitude à M. URBAIN, qui nous initia à la pratique de la réaction de déviation du complément, nous permit d'augmenter le nombre de nos observations et nous prodigua toujours ses conseils.

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE EXPÉRIMENTALE SUR LA MORVE

LA MALLÉINE

A) Les divers modes de malléination

Pour le diagnostic de la morve, personne ne saurait plus contester, aujourd'hui, la merveilleuse puissance de la malléine, cet extrait stérile des cultures du bacille morveux en bouillon glycérimé, dont la préparation et la découverte des propriétés sont dues aux vétérinaires russes HELMAN et KALNING (1888-1891).

*
*
*

Malléination sous-cutanée

La malléine, considérée comme élément diagnostique de l'infection morveuse, fut d'abord utilisée en injection sous-cutanée. Les règles de ce mode de malléination ont été magistralement établies par NOCARD.

On emploie la malléine brute de ROUX, diluée au dixième dans l'eau phéniquée à 5 0/00 ; on injecte 2,5 cc. de cette dilution sous la peau de l'encolure.

Chez les chevaux morveux, l'inoculation hypodermique de malléine provoque :

1° Des manifestations au niveau des lésions spécifiques (réaction focale) ;

2° Des troubles généraux accompagnés d'une élévation de la température centrale (réaction générale) ;

3° Une tuméfaction au lieu de l'injection (réaction locale).

La *réaction focale* n'est visible que lors de morve clinique. Elle se traduit par une exacerbation des symp-

tômes du processus morbide : les abcès suppurent davantage, les boutons farcineux s'ouvrent prématurément ; en outre, les nodules pulmonaires sont le siège de congestion.

La *réaction générale* comprend une réaction organique et une réaction thermique.

La *réaction organique* est indiquée, quelques heures après l'injection, par de la tristesse, de l'abattement, des frissons et des tremblements musculaires. Après dix à douze heures, l'animal est dans une prostration intense ; l'appétit est supprimé ou très diminué, la respiration est précipitée, la marche est pénible, hésitante.

On constate parfois des coliques légères ou un engorgement diffus d'un membre. Le cheval le plus excitable est devenu mou, indifférent. Les signes observés rappellent l'état typhoïde.

La *réaction thermique* consiste en une élévation de la température centrale de 1°5 à 2°5 et plus, au-dessus de la normale. Elle est tardive, progressive et durable. Déjà notable vers la huitième heure après l'injection, l'hyperthermie atteint sa limite maxima vers la douzième heure, par exception vers la quinzième ou la dix-huitième heure. Cette hyperthermie persiste pendant vingt-quatre heures au moins ; la température s'abaisse ensuite, lentement et régulièrement, jusqu'à la normale. Si l'on traduit, par un graphique, la variation des températures d'un animal réagissant, en fonction du temps, on obtient une *courbe dite en plateau*.

La *réaction locale* est tardive : elle n'apparaît que le lendemain du jour de l'inoculation. Au point d'insertion de la malléine, il se forme une tuméfaction chaude, tendue, douloureuse, irrégulièrement arrondie ; son étendue varie entre le diamètre de la paume de la main et celui d'une assiette. Parfois, des traînées lymphatiques sinueuses partent de la tumeur et gagnent les ganglions voisins. La tuméfaction augmente progressivement pen-

dant douze à vingt-quatre heures, reste stationnaire deux à trois jours, puis se résorbe en cinq à huit jours.

*
* *

Pour conserver à la malléation sous-cutanée toute sa valeur, il faut prendre certaines précautions. Son interprétation dépendant, pour une part, du relevé thermométrique, il est indispensable de soustraire les chevaux éprouvés aux variations atmosphériques (soleil, pluie, vent...), capables de modifier la température centrale ; les animaux seront donc immobilisés vingt-quatre à quarante-huit heures avant l'injection. Les indications thermométriques sont faussées et sans signification chez les animaux déjà fébricitants. Le jour où l'on se propose de pratiquer l'inoculation, la température est prise le matin, à midi et le soir. L'opération sera différée si l'on constate des variations étendues (plus d'un degré) ; il en sera de même si la température reste constamment au-dessus de la normale, vers 39° et au-dessus. Il est indiqué d'injecter la malléine entre 8 et 10 heures du soir. Pendant toute la journée du lendemain, à partir de 6 heures du matin, les températures sont relevées toutes les deux heures. Le surlendemain, on prend encore trois températures.

L'écart thermique est mesuré par la différence entre la plus haute température du jour qui suit l'injection et la moyenne thermique de la journée de l'inoculation.

*
* *

Valeur diagnostique comparée des diverses réactions

Les quatre facteurs que l'on peut noter à la suite d'une malléation sous-cutanée ne possèdent pas une valeur diagnostique équivalente.

La réaction focale ne peut être observée que rarement et seulement dans des cas où des signes cliniques créent

déjà la suspicion de morve ; aussi son importance est-elle secondaire.

La réaction organique a toujours été considérée comme ayant une grande valeur ; dès 1905, BLANC disait qu'elle est « concluante ». En 1907, RACCA écrit que l'on doit considérer comme morveux un animal qui présente une réaction organique forte et durable, même en l'absence de réaction locale ou d'une fièvre caractéristique. Malheureusement, elle peut faire défaut ; d'autre part, ainsi que l'a fait remarquer MOUILLERON, elle a un caractère individuel : les sujets nerveux, irritables, l'offrent toujours ; tandis que les chevaux mous, lymphatiques, peuvent ne pas la présenter.

Lors de l'introduction de la malléine dans la lutte contre la morve, on attachait une importance capitale à la réaction thermique ; c'était le graphique des températures que l'on retenait surtout pour condamner ou non l'animal (NOCARD et LECLAINCHE). Depuis on s'est aperçu que dans certaines circonstances (jeune âge, fatigue de voyages...), après l'insertion de malléine, des animaux sains pouvaient présenter une poussée thermique brusque et fugace ; aussi on ne lui accorda plus la même valeur qu'autrefois. D'après MOUILLERON (1914) « l'hyperthermie seule est insuffisante pour dénoncer la morve » ; elle crée seulement la suspicion ; c'est aussi l'opinion de DROUIN. On peut cependant affirmer que lorsque la réaction thermique se manifeste avec une tardivité relative, est progressive et durable, elle conserve une grande et réelle valeur.

Quant à la réaction locale, elle fut considérée, au début de la pratique des malléinations, comme secondaire. NOCARD et LECLAINCHE, la comparant à la réaction générale, estimaient que « sa signification est moins absolue ». Depuis, on a remarqué qu'une réaction locale, se traduisant par une tuméfaction chaude, très sensible et persistante, est pathognomonique ; elle peut faire considérer

un cheval comme morveux, même en l'absence de réaction thermique ; nombre d'auteurs ont souligné cette importance : BLANC, RACCA, SIMPSON, MOUILLERON, DROUIN.

*
* *

En ce qui concerne la valeur de la malléination sous-cutanée, bornons-nous à dire que, dès 1898, NOCARD et LECLAINCHE écrivaient : « Des centaines d'observations démontrent à l'évidence les éminents services que peut rendre la malléine quant à l'assainissement des milieux infectés. La malléine permet enfin d'éviter sûrement une nouvelle apparition de la morve dans une exploitation » ; et ces auteurs ajoutaient : « Une réaction complète à la malléine est univoque ; l'animal qui réagit est morveux... Un animal qui ne réagit pas n'est pas morveux, quelle que soit l'apparence des symptômes observés. »

*
* *

Autres modes de malléination

Diverses autres modalités d'insertion de la malléine ont été tentées et l'on a obtenu des cuti-malléinations, des oculo-malléinations, etc. Ces réactions donnent des résultats moins sûrs et peuvent être facilement fraudées, aussi elles ne sont plus guère utilisées.

Au contraire, l'*intra-dermo-palpébro malléination* est une méthode dont l'expérience a montré la grande valeur ; elle est due à DROUIN et NAUDINAT (1912-1913). Par ce procédé, on inocule dans le derme de la paupière inférieure un dixième de centimètre cube d'une malléine plus concentrée, diluée au quart seulement. Chez le sujet morveux la réaction débute dès la dixième heure, atteint son maximum entre la vingt-quatrième et la quarante-huitième heure et persiste trois à cinq jours. Elle se traduit par une tuméfaction œdémateuse envahissant la pau-

pière inférieure et même la supérieure dans certains cas; en outre il existe du larmolement, de la conjonctivite, et il s'écoule bientôt un liquide muco-purulent à l'angle interne de l'œil.

L'éloge de ce procédé n'est plus à faire ; d'une sensibilité au moins égale à la malléination sous-cutanée, il n'en présente pas les inconvénients. Il « simplifie considérablement les opérations en supprimant les relevés thermométriques et en permettant au vétérinaire de choisir son moment, tant pour l'injection elle-même que pour la constatation des résultats » (DROUIN et NAUDINAT); il est utilisable chez les fébricitants et n'est nullement influencé par les variations de température extérieure ; il n'est exclusif d'aucune autre méthode de contrôle, la faible dose de toxine injectée ne modifiant en rien l'état de l'organisme ; enfin son interprétation est facile. Pour DROUIN et NAUDINAT, la malléination intra-palpébrale constitue « la méthode de choix pour la lutte pratique contre les gros foyers de morve ».

DOUVILLE lui attribue une sensibilité supérieure à la malléination hypodermique : « Tous nos morveux cliniques (40) ont réagi à l'œil, alors que cinq d'entre eux ont fourni à la sous-cutanée une réaction bâtarde, insuffisante par elle-même à confirmer le diagnostic si celui-ci n'avait déjà été établi par l'examen clinique » ; et cet auteur conclut : « ... à l'heure actuelle l'intra-dermo-malléination est la méthode la plus simple, la plus expéditive, la plus sûre et la plus pratique pour dépister la morve dans toutes les conditions ».

FAYET estime aussi que l'intra-dermo « donne des signes de diagnostic plus évidents, prêtant moins à des erreurs que la méthode sous-cutanée ».

B) Essai d'un nouveau mode de malléination :

Malléination hypodermique seconde par injection d'une double dose

On a signalé une accoutumance passagère à la malléine; ce phénomène oblige le praticien à laisser un délai minimum entre deux malléinations sous-cutanées successives, s'il désire que ces réactions gardent toute leur valeur diagnostique. Cette accoutumance momentanée a été observée pour ce mode d'emploi de la malléine seulement. Les ophtalmo-réactions sont, en effet, progressivement sensibilisantes ; de même DROUIN et NAUDINAT indiquent qu'après une malléination palpébrale douteuse, on peut renouveler l'épreuve dans les vingt-quatre heures, et DOUVILLE a écrit : « Le cheval en puissance de morve réagit aux paupières autant de fois qu'on le sollicite, quel que soit le délai qui sépare les épreuves successives. »

Le délai qui doit séparer deux malléinations sous-cutanées consécutives varie de une à quatre semaines selon les auteurs. NOCARD, LAVALARD, DE HAAN, HOOGMAKER, HUTYRA et MAREK ont recommandé quatre semaines au moins. FOTH, WLADIMIROFF, MALM, SCHINDELKA, JOHNE, estiment que deux à trois semaines suffisent. FORTUNA réduit cet intervalle à dix jours et BABES à huit jours. AUJESZKY conseille de ne pratiquer la seconde injection après dix à quatorze jours que dans des conditions exceptionnelles, et d'ordinaire après trois semaines seulement. DOUVILLE a réduit ce délai à une décade et même à une huitaine ; il a constaté que les deux injections donnaient des résultats identiques.

Peut-on vaincre cette pseudo-accoutumance à la malléine ? Comparativement à la méthode de la *double dose*, préconisée par VALLÉE pour déceler la tuberculose dans des circonstances particulières, nous avons expérimenté une *malléination seconde par injection d'une double dose*.

Déjà, en 1892, LECLAINCHE essaya cette malléination seconde et relata les deux observations suivantes :

Deux chevaux subissent la malléination sous-cutanée ; le premier réagit de 2°5 et la température maxima est de 41°2 quatorze heures après l'injection ; le second réagit de 2°8 et son acmé thermique atteint 41° à la septième heure. Ces deux animaux reçoivent deux jours plus tard, à cinq heures du matin, la même dose de malléine. Chez le premier sujet, la température a atteint 41° quinze heures après l'injection et la réaction thermique a été de 3°2 ; la réaction locale reste faible. Chez le second, on nota une réaction de 1°5 avec une température maxima de 41°, sept heures après l'injection.

De ces observations, LECLAINCHE conclut que l'intensité de la réaction secondaire et surtout sa durée sont moindres.

DOUVILLE, qui a appliqué à la morve la méthode de la double dose de VALLÉE, écrit : « ... des animaux que nous savions morveux latents par une palpébrale et une première sous-cutanée ont réagi dans les mêmes délais et de la même façon avec une double dose de réactif ; la réaction n'a nullement été plus précoce. »

Voici comment nous avons procédé :

Technique. — Deux jours après une malléination sous-cutanée ordinaire, le sujet reçoit une dose double, soit 5 cc. de malléine diluée au dixième, sous la peau de l'encolure, du côté opposé à l'inoculation initiale. Cette injection est faite le matin, dès 6 à 7 heures, et la journée de l'épreuve les températures sont relevées régulièrement toutes les deux heures. Nous avons en effet noté que les réactions locale, thermique et générale étaient précoces et fugaces ; donc si l'on prenait les températures à partir de la dixième heure seulement, comme lors de l'insertion initiale, l'on risquerait de ne pas saisir le moment de la réaction.

Le lendemain de l'injection, on relève la température trois fois,

Mode d'action de l'injection seconde

Précocité et fugacité de la réaction, à la suite de la seconde insertion d'extrait bacillaire, ne sont pas particulières à la morve; c'est un phénomène général, observé dans nombre de maladies contagieuses.

Nous pensons que l'organisme, ses tissus et ses humeurs ont été modifiés par l'infection morveuse; celle-ci crée un état d'« allergie » tout particulier. Mais l'inoculation première de malléine va modifier l'organisme morveux, imprimer des altérations particulières aux humeurs et transformer ainsi l'état d'allergie primitivement institué en provoquant des réactions secondes à la fois précoces et accélérées. Une réaction différente de la première traduit ainsi la nouvelle insertion d'extrait bacillaire; c'est l'état d'allergie qui rend l'économie *hypersensible*; précocité et fugacité sont les attributs de cette réaction allergique. Nous avons là un phénomène comparable à celui que VON PIRQUET signala pour la première fois dans la variole de l'homme. Depuis, des « *réactions changées* » de même ordre, des états d'hypersensibilité ont été notés en vétérinaire par POURQUIER (1887) dans la clavelée, VALLÉE (1904) dans la tuberculose, BOQUET et NÈGRE dans la lymphangite épizootique, BOQUET (1928) dans l'entérite paratuberculeuse des bovidés.

Nous pensons donc que non seulement il n'existe pas d'accoutumance à la malléine, mais qu'à la suite d'une première insertion, le sujet morveux, en état d'allergie, est sensibilisé à l'extrait bacillaire.

Interprétation de la réaction.

La réaction thermique se mesure par l'écart entre la température du moment de l'injection et l'acmé thermique notée durant les heures qui suivent. La réaction locale et la réaction générale s'apprécient le jour de l'inoculation.

Tout animal qui fournira une réaction de 4°5 au moins devra être considéré comme morveux ; une réaction comprise entre 0°8 et 1°5 entraînera la suspicion. De même que pour la malléination hypodermique classique, il est absolument contre-indiqué de soumettre à l'épreuve tout sujet dont la température atteint 39°. On évitera également de donner à boire pendant l'heure qui précède chaque prise de température.

Indications de la méthode. — La malléination seconde par injection d'une double dose n'est à conseiller que dans quelques cas. En effet, encore plus qu'à son aîné, le procédé classique, on peut lui reprocher d'immobiliser longtemps les animaux, de n'être pas applicables aux fébricitants, d'être influencée par les variations de température extérieure, d'exiger l'usage du thermomètre.

Cette méthode peut rendre cependant de signalés services. Elle reconnaît deux indications principales :

a) Lorsque le vétérinaire soupçonnera un cheval suspect de morve, soumis à son examen, d'avoir été malléiné les jours précédents, il pourra lui injecter, le matin, 5 cc. de malléine au dixième.

Comme pour la tuberculose, ce cas peut se présenter lors de vente ou d'importation de chevaux : commerçants peu scrupuleux pensant mettre à profit la prétendue accoutumance à la malléine en malléinant leurs animaux deux ou trois jours avant la vente.

b) Lors de réaction douteuse après une première malléination sous-cutanée, au lieu d'attendre quatre semaines pour interroger de nouveau comme on faisait autrefois, il sera avantageux d'inoculer 5 cc. de malléine deux jours après. La réaction consécutive à cette seconde intervention permettra souvent au praticien de se faire une opinion.

Observations. — Voir observations I et II.

C) Mobilisation de *Bacillus Malléi* dans le sang de cheval morveux sous l'influence d'injections de malléine

Divers auteurs rapportent que chez le cheval, dans la forme aigüe de la morve, le sang est parfois virulent, mais que dans les formes chronique et occulte le sang ne véhicule pas *Bacillus Malléi*.

Nous nous sommes demandé si l'injection hypodermique de malléine, qui produit, sous le nom de réaction focale, une hyperhémie des lésions morvo-farcineuses, ne provoquerait pas aussi une apparition de bacilles dans le sang. C'est dans ce but que nous avons fait l'expérience suivante :

Le 3 janvier 1928, sur un cheval atteint de morve occulte, nous prélevons aseptiquement 10 cc. de sang par ponction de la veine jugulaire gauche ; le sang est recueilli dans une seringue en cristal dont les parois ont été, au préalable, en contact avec une solution stérilisée de citrate de soude, pour retarder la coagulation. Puis, immédiatement, ce sang est inoculé par la voie intrapéritonéale à deux cobayes mâles qui reçoivent chacun 5 cc. L'un d'eux présente le 7 janvier une respiration très accélérée et discordante et est trouvé mort le 8 au matin dans un état d'extrême cachexie. L'autopsie révèle de la congestion pulmonaire, mais les organes génitaux, le foie, la rate sont indemnes ; la mort ne peut donc être rapportée à l'infection morveuse.

Le 3 janvier à 21 heures, le cheval subit une inoculation sous-cutanée de 2.5 cc. de malléine au 1/10 ; le 4 janvier, la réaction est caractéristique. Le 6 janvier à 7 heures, nous injectons de nouveau 5 cc. de malléine diluée ; le jour même, le cheval présente une réaction nettement positive.

Le 7 janvier, nous prélevons 10 cc. de sang que nous inoculons dans le péritoine de deux cobayes mâles, à raison de 5 cc. chacun.

Aucun des animaux inoculés, soit avant, soit après la malléination par la méthode de la double dose, n'a présenté le « signe de STRAUS » ou autres symptômes d'infection morveuse ; dans les quelques jours qui suivirent l'injection, nous avons simplement remarqué sous le ventre une légère tuméfaction, qui disparut d'ailleurs rapidement. Nous avons autopsié ces cobayes deux mois plus tard, sans relever la présence de lésions spécifiques.

Cette observation permet de conclure que les injections de malléine ne provoquent pas, dans les conditions de nos essais, une apparition de bacilles dans le sang des animaux atteints de morve occulte ; elle vérifie aussi la notion de l'innocuité du sang dans cette forme de la diathèse morvo-farcineuse.

La Réaction de fixation dans la Morve

La réaction de déviation du complément ou de fixation de l'alexine est due à BORDET et GENGOU et date de 1901.

Depuis, l'importance de cette méthode sérologique n'a cessé de s'accroître et sa pratique est devenue courante au laboratoire. Parmi les propriétés de cette réaction, nous en retiendrons une surtout : elle constitue un moyen diagnostique précieux de nombreuses maladies infectieuses. Mais elle permet aussi « de suivre l'évolution des anticorps dans les humeurs au cours de l'infection et d'étudier leurs rapports avec les signes cliniques et la marche de l'immunisation » (NICOLLE et BOQUET).

A. — Historique et généralités

La réaction de fixation a été appliquée à la morve depuis déjà quelque vingt ans. De nombreux auteurs, allemands pour la plupart, ont utilisé cette réaction, inaugurant des techniques différentes et aboutissant à des résultats tantôt optimistes, tantôt pessimistes.

Les premiers expérimentateurs sont : WASSERMANN qui, en 1906, fit les premiers travaux, SCHÜTZ et SCHUBERT, MIESSNER et TRAPP, KEYSER, VALENTI, SHIRNOFF, FEDDERS, DE BLIECK, etc., en 1909. Puis, parmi nombre d'autres, nous citerons : DE HAAN (1910), PFEILER (1910), CÉSARI (1910), CIUCA (1910), ZURKAN (1911), PFEILER et WEBER (1912), SCHNEIDER (1916), BUXTON (1917), POVITSKY (1918), POPPE (1919), PFEILER et GRAFE (1919), FONTAINE et LÜTGE (1919), FINZI (1920), GIESE (1920), AMIOT (1922), REVERDIN et GRUMBACH (1924), etc.

Ajoutons enfin à cette liste BROCC-ROUSSEU, FORGEOT et URBAIN (1921-1924), qui ont utilisé pour cette réaction

une méthode simple et précise et ont obtenu un antigène très sensible et de valeur bien définie.

Avant d'entreprendre l'exposé de la réaction de fixation, il nous a paru utile de définir sommairement quelques termes qui, au cours de ce chapitre, reviendront fréquemment.

L'injection à un animal sensible de cellules, humeurs, microbes ou ferments solubles, donc de toutes substances renfermant en proportions variables des constituants protéiques de nature colloïdale, provoque, dans ses milieux, la formation de substances antagonistes appelées *anticorps spécifiques*.

Ces substances, capables de donner naissance aux anticorps, ont été appelées *antigènes* par DETRE DEUTSCH.

Il n'y a que les substances organiques, d'origine animale ou végétale, qui peuvent se comporter comme des antigènes.

Les anticorps sont inconnus dans leur nature ; ils n'ont pu être isolés et ne sont décelés que par les réactions particulières qu'ils provoquent ; ils sont surtout abondants dans le sérum sanguin. Ils se forment dans les humeurs, soit au cours de l'infection, soit au cours d'injection d'antigènes. Ils sont distingués en *agglutinines*, *lysines*, *précipitines*, *sensibilisatrices* et *antitoxines*.

Dans la réaction de BORDET-GENGOU, ce sont les *sensibilisatrices* qui sont mises en évidence. Elles ont d'abord été étudiées par PFEIFFER (1894), dans une expérience devenue classique, puis par BORDET et GENGOU (1898), et EHRLICH et MORGENROTH (1899). Les sensibilisatrices sont spécifiques et leur affinité se limite étroitement aux antigènes correspondants. Elles résistent au chauffage prolongé à 55° et ne sont détruites que vers 70°, aussi sont-elles dites *thermostabiles* ; elles se conservent intactes pendant un temps très long.

Dans tout sérum neuf et frais, quelle que soit l'espèce animale qui l'a fourni, il existe une substance commune

appelée *alexine* par BORDET et BUCHNER et *complément* par EHRLICH. L'alexine n'est pas produit d'immunisation et n'est pas spécifique. Par opposition aux sensibilisatrices, elle est *thermolabile*, c'est-à-dire détruite par un chauffage à 54-55° pendant 30 minutes. Dialysée en présence d'eau distillée, l'alexine se sépare en deux fractions : les globulines qui se précipitent, et l'albumine qui reste en solution. Ces deux substances, inactives séparément, récupèrent leurs propriétés alexiques lorsqu'elles sont mélangées (FERRATA) ; les Allemands ont appelé les premières, le *chaînon moyen* (Mittelstück), la seconde le *chaînon terminal* (Endstück). D'après BRIN, seul l'« Endstück » permet la réaction de fixation et est lié à la sensibilisatrice, tandis que le « Mittelstück » n'exerce aucune influence et reste libre vraisemblablement dans le milieu.

B. — Principe

Lorsque, dans un mélange en proportions convenables d'antigène, d'antisérum homologue et d'alexine, l'alexine se trouve fixée, c'est que les anticorps sériques correspondent exactement à l'antigène employé ; voilà la réaction fondamentale dont nous devons le principe à BORDET et GENGOU, et qui se traduira par le phénomène de *lyse* de l'antigène. Si, comme dans l'expérience de PFEIFFER, l'antigène est un microbe, il est lysé par l'action combinée de l'anticorps et de l'alexine : il y a *bactériolyse*. Si l'antigène est constitué par des globules rouges, l'action lytique se manifeste par l'*hémolyse*, c'est-à-dire la destruction des globules caractérisée par la diffusion de la matière colorante, l'hémoglobine, hors du protoplasma cellulaire. L'hémolyse s'apprécie à l'œil nu, alors que la bactériolyse ne peut être mise en évidence qu'au microscope. C'est dans le but de faciliter la constatation de la bactériolyse, que BORDET et GENGOU (1901) ont réalisé la

réaction de fixation de l'alexine ou de déviation du complément.

Cette réaction s'effectue en trois temps :

1° On constitue un *système bactériolytique* en mettant en présence un antigène, un anticorps correspondant, sérum de malade ou d'animal immunisé, inactivé à 55°, et de l'alexine, c'est-à-dire pratiquement du sérum frais de cobaye. Le tout est mis à l'étuve à 37° pendant une heure.

2° On prépare des *globules sensibilisés* : émulsion d'hématies de mouton débarrassées de toute trace de sérum, additionnée d'une quantité convenable d'un sérum hémolytique pour ces globules, inactivé par chauffage à 55°.

3° Le système bactériolytique et les globules sensibilisés sont mélangés dans un même tube qui est placé à l'étuve à 37° pendant trente minutes.

Au bout de ce temps, deux faits peuvent se produire :

1° Le sérum du malade contient une sensibilisatrice ; elle se fixe sur l'antigène et le complément est ensuite « *dévié* » par ce système bactériolytique.

L'alexine n'étant plus libre pour activer le sérum hémolytique, celui-ci est incapable de produire l'hémolyse. On dit que la réaction est *positive*.

L'absence d'hémolyse sert de témoin à la *déviation* ou à la *fixation de l'alexine* sur le complexe antigène + anticorps.

2° Le sérum à examiner ne possède pas d'anticorps spécifiques ; dans ce cas l'antigène n'est pas « *sensibilisé* » et le complément reste libre ; il va alors activer le sérum hémolytique *inactivé* : l'hémolyse des hématies de mouton se produit. On dit que la réaction est *négative*.

C. — Préparation et titrage des éléments de la réaction de fixation

Les éléments nécessaires à l'exécution de la réaction de fixation sont :

1° *Une émulsion d'hématies lavées* (les globules de mouton sont presque exclusivement employés).

2° *Un sérum hémolytique* : pour obtenir un bon sérum hémolytique, il faut s'adresser à une espèce qui produise facilement des sensibilisatrices, mais très peu d'agglutinines ; de plus, il faut que son sérum ne soit pas naturellement hémolytique pour les hématies de mouton. Les animaux qui répondent le mieux à ces desiderata sont le lapin et le cheval.

3° *L'alexine.*

4° *Le sérum à examiner.*

5° *L'antigène.*

*
* *

En ce qui concerne l'obtention de l'émulsion de globules de mouton et du sérum hémolytique, nous recommandons de consulter l'excellent ouvrage de M. URBAIN : « La Réaction de fixation appliquée au diagnostic de certaines maladies microbiennes ou parasitaires, communes à l'homme et aux animaux ».

Certaines techniques de la réaction de déviation du complément, telle la méthode de CALMETTE et MASSOL, exigent le titrage préalable du sérum hémolytique. Puis, d'après ces auteurs, dans chaque réaction, on doit employer une dose de sérum hémolytique, comprise entre dix et vingt fois la dose minimum hémolysante. Grâce à cet excès de sérum hémolytique, la moindre trace d'alexine non fixée est décelée par action dissolvante sur les globules sensibilisés.

Dans la méthode de BESREDA, la seule que nous avons utilisée, le titrage du sérum hémolytique est effectué pendant le second temps de la réaction, suivant une technique que nous décrirons ultérieurement. La dose de sérum hémolytique employée est égale ou très légèrement supérieure à la dose hémolytique minimum.

Alexine

Pratiquement, l'alexine est fournie par le sérum frais de cobaye. Le sérum de cobaye a, en effet, l'avantage de ne présenter qu'un pouvoir hémolytique naturel négligeable pour les globules des autres espèces animales habituellement employées : mouton, bœuf, cheval, homme, chien, lapin.

Le sang de cet animal est obtenu soit par ponction du cœur, soit par saignée à la carotide. L'alexine devant être employée très fraîche, le sérum est extrait par centrifugation le jour de la réaction.

MASSOL et GRYZEZ ont montré que l'activité de l'alexine baisse rapidement avec le vieillissement ; conservée neuf jours à 4-6°, elle n'a plus que de 12 à 37 % de sa valeur initiale. D'après les mêmes auteurs, l'alexine perd la moitié de son titre, si elle reste diluée au vingtième de son volume primitif pendant une heure, notion primordiale pour la pratique de la réaction.

Il existe divers procédés de conservation de l'alexine ; un de ceux qui donnent les meilleurs résultats est celui de MASSOL et NOWACZINSKI. Il consiste à additionner le sérum frais de cobaye d'un dixième de son volume d'eau saturée de Na Cl (36 grammes par litre). Au moment de l'emploi, il suffit de faire la dilution dans l'eau distillée pour restituer au sérum sa tonicité normale. Par cette méthode, le titre alexique reste intact dix à quinze jours.

Le sérum de lapin, moins riche en alexine, mais pouvant être avantageusement conservé à la glacière pendant au moins quinze jours, et d'une stabilité plus grande lorsqu'il est dilué que le sérum de cobaye, peut être utilisé dans quelques cas, comme l'ont montré PIERRET et BRETON.

Dans le procédé de BESREDKA, le titrage de l'alexine s'effectue en même temps que celui du sérum hémolytique.

Sérum à étudier

Ce sont exclusivement sur des sérums de chevaux que nous avons pratiqué la réaction ; nous décrirons la technique du prélèvement de sang et de la récolte du sérum que nous avons employée chez cet animal.

Le sang est recueilli par ponction stérile de la veine jugulaire.

L'opérateur se munit d'une seringue de Pravaz et d'un trocart capillaire préalablement bouillis. Nous avons préféré ce petit trocart dont la canule a un millimètre de diamètre à la simple aiguille : le débit plus élevé du trocart favorise la rapidité de l'opération et par conséquent diminue les risques de coagulation du sang dans la seringue, coagulation qui se produit parfois dans l'aiguille même, lorsque celle-ci est longue.

Un aide maintient la tête du cheval élevée et légèrement inclinée du côté opposé. Fréquemment, cette contention est suffisante, mais si le sujet est indocile, on la complètera par l'application d'un tord-nez à la base de l'oreille, et non au bout du nez, afin de diminuer le danger de pollution des mains de l'aide.

Au niveau du lieu d'élection de la ponction veineuse (à la limite des tiers moyen et supérieur de la région jugulaire), les poils sont coupés, puis la région est lavée et frottée à rebrousse poils avec un tampon de coton imprégné d'une solution picriquée. L'hémostase est réalisée par

compression, soit à la main, soit à l'aide d'un garrot fixé à la base de l'encolure.

L'introduction du trocart dans la jugulaire se fait en deux temps : a) ponction de la peau ; b) ponction de la veine. On retire le mandrin du trocart et après avoir laissé couler quelques gouttes de sang, on ajuste la seringue sur la canule. On retire environ 20 cc. de sang, quantité qui donne une dose de sérum largement suffisante pour la réaction de fixation, même lorsque l'on veut pratiquer celle-ci à la fois sur le sérum normal et sur le sérum dilué.

Il est préférable de faire la saignée chez le malade à jeun, ou tout au moins en dehors de la période de digestion ; pendant celle-ci, le sang contient des particules graisseuses, son sérum exsude difficilement et il est souvent opalescent, ce qui peut nuire à la netteté de la réaction.

Dès le prélèvement terminé, le contenu de la seringue est réparti dans deux ou trois tubes à essai stériles, opération qui doit être prompte afin d'éviter un commencement de coagulation dans la seringue.

On effectuera toutes ces manipulations avec le plus d'asepsie possible.

ARMAND-DELILLE et NÈGRE indiquent de recueillir le sang, chez l'homme, directement dans un tube à la sortie du vaisseau, si l'on veut avoir un sérum clair et non laqué.

Chez le cheval, les risques de souillure nous ont paru moindres, en suivant le procédé décrit qui nous a toujours permis d'obtenir des sérums d'une grande clarté.

Le sang recueilli ne doit pas être placé à la glacière, les basses températures empêchant la rétraction du caillot. Celle-ci est facilitée, au contraire, par l'atmosphère de l'étuve à 37°. Le plus simple sera de laisser le sang à la température du laboratoire. Au bout de quelques heures, trois à dix, on décolle aseptiquement les bords du caillot pour favoriser sa rétraction et obtenir un sérum clair et non laqué. En cas d'urgence, le sérum peut être obtenu

par centrifugation. Puis on décante le sérum à l'aide d'une pipette coudée, stérile, et on le distribue dans un ou deux tubes.

Le sérum est ensuite inactivé.

WLADIMOROFF, SHIRNOFF, puis URBAIN ont montré que, pour inactiver le sérum de cheval, un chauffage à 60° pendant trente minutes était nécessaire pour faire disparaître les substances anticomplémentaires, particulièrement fréquentes et abondantes dans le sérum morveux.

URBAIN ajoute que « ce chauffage à 60° rend la réaction beaucoup plus sensible dans le cas où le taux des sensibilisatrices est peu élevé ».

AMIOT recommande de détruire le complément du sérum par un chauffage au bain-marie à 60-62°, pendant vingt minutes.

BUXTON conseille, dans le cas du mulet, un chauffage à 62° pendant quinze minutes.

L'inactivation de nos sérums par un séjour de trente minutes au bain-marie à 59-61°, nous a toujours donné satisfaction.

Les sérums ainsi préparés peuvent être conservés à la glacière pendant plusieurs semaines sans que le taux de leurs anticorps diminue. Si le sérum est absolument stérile, on peut même le conserver un temps assez long à la température du laboratoire et à l'abri de la lumière.

La conservation du sérum ; son envoi au laboratoire

L'exécution de la réaction de fixation exige, outre une habitude des manipulations de laboratoire de la part de l'opérateur, un certain matériel. Aussi, le praticien isolé ne pourra que rarement effectuer cette réaction lui-même; il devra s'adresser au laboratoire compétent. Dans l'intervalle qui s'écoule entre le prélèvement de sang et la réaction sérique, des microbes et moisissures peuvent se développer dans le sérum et, par leurs toxines, fausser les résultats de l'analyse. D'où la nécessité d'annihiler ces

développements microbiens tout en respectant les anticorps que peut contenir le sérum suspect.

C'est dans ce but que nous avons fait quelques expériences sur la conservation du sérum par le froid, d'une part, par l'addition d'antiseptiques d'autre part.

1° *Conservation du sérum par le froid.*— Nous avons constaté maintes fois que le froid respecte les sensibilisatrices morveuses et que l'on peut impunément conserver du sérum suspect pendant plusieurs mois à la glacière.

2° *Conservation du sérum par les antiseptiques*

Expériences (voir tableau)

Ces observations montrent que diverses substances antiseptiques peuvent être ajoutées au sérum sans que le taux de ses anticorps soit modifié. On pourra ainsi conserver le sérum, à la température du laboratoire, quarante jours au moins, délai qui sera, dans la plupart des cas, suffisant.

Parmi les antiseptiques courants, nous recommandons surtout le phénol dans la proportion de 2 o/oo et l'acide borique de 0,5 à 1 o/o.

D'ailleurs KALININ et GINSBURG ont aussi préconisé l'addition de 1 o/o d'acide borique cristallisé pour la conservation du sérum hémolytique.

L'eau oxygénée paraît médiocre, au moins au taux où nous l'avons utilisée, car elle n'inhibe pas tout développement bactérien dans le sérum dont une récolte rigoureusement aseptique est impossible. On pourrait peut-être l'essayer à un taux plus élevé (1 ou 2 o/o) ; mais alors on dilue beaucoup le sérum à examiner et il faudrait faire des corrections en pratiquant la réaction.

Nous proscrivons l'usage du formol qui semble détruire les sensibilisatrices.

	Prélèvement de sang	Addition de l'antiseptique	Inactivation	Aspect du sérum le jour de l'inactivation	Réaction de fixation	Résultats de la réaction	Durée de la conservation à la température du laboratoire
1 ^{er} Sér. morveux témoin...	2 mai	»	4 mai	limpide	5 mai	+ (40 unités)	
Ce Sér. + 5 ^o /100 ac. borique.	—	4 mai	5 juin	—	6 juin	+ (50 —)	33 jours
Ce Sér. + 5 ^o /100 H ² O 2.....	—	—	5 juin	léger trouble	—	+ (50 —)	—
Ce Sér. + 2 ^o /100 formol	—	—	12 juin	limpide	13 juin	—	40 jours
Ce Sér. + 2 ^o /100 phénol.....	—	—	—	—	—	+ (50 unités)	—
2 ^e Sér. morveux témoin. ..	12 mars	»	13 mars	limpide	14 mars	+ (25 unités)	
Ce Sér. + 2 ^o /100 phénol.....	—	13 mars	20 mars	—	21 mars	+ (25 unités)	7 jours

Antigène

L'antigène joue un rôle décisif dans la réaction de fixation, aussi son choix est-il primordial, mais délicat.

Un bon antigène doit être :

1° Sensible, c'est-à-dire capable de déceler les plus petites traces de sensibilisatrices des sérums à examiner.

2° Fixe, avoir une valeur antigène constante.

3° Inaltérable ; il doit pouvoir se conserver indéfiniment.

4° Spécifique, c'est-à-dire ne fixer l'alexine qu'en présence des anticorps qu'il produit.

Pour la réaction de fixation dans la morve, on a préconisé de nombreux antigènes ; leur préparation varie avec les auteurs, mais en principe, ce sont tous, soit des suspensions de bacilles morveux en sérum physiologique, soit leurs produits solubles (exo et endo-toxines).

MIESSNER et TRAPP ont recommandé un extrait aqueux de bacilles morveux, obtenu par dilution d'une culture sur agar-agar dans 250 à 1000 fois son poids d'eau physiologique phéniquée ; cet extrait ne doit pas être filtré. Ils ont reconnu que la malléine sèche de FORTH, les extraits aqueux ou alcooliques des organes de chevaux morveux ou sains, l'extrait alcoolique des microbes, ne dévient pas le complément en présence du sérum des chevaux morveux.

SCHUTZ et SCHUBERT ont utilisé un extrait des bacilles morveux obtenu après broyage des corps microbiens tués, émulsion dans l'eau physiologique et centrifugation.

DE BLIECK préconise l'émulsion bacillaire.

PFEILER et WEBER emploient des cultures chauffées à 70° pendant deux heures, filtrées sur coton de verre, puis agitées pendant trois heures.

Pour PFEILER et GRAFE les extraits polyvalents seraient plus sensibles que les extraits monovalents.

MARCIS recommande un extrait ou une émulsion de bacilles morveux.

CIUCA a préconisé la malléine diluée. BROCC-ROUSSEU, FORGEOT et URBAIN ont reconnu que sa valeur antigène est inconstante.

URBAIN a utilisé deux antigènes : « l'un est constitué par une émulsion de bacilles tués par l'alcool-éther, à raison de 1 centigr. pour 50 cc. d'eau physiologique ; l'autre est une émulsion de corps microbiens tués, provenant de cultures servant à la fabrication de la malléine (4 centigr. dans 20 cc. d'eau physiologique) ; cette dernière émulsion est toujours portée à l'ébullition cinq minutes. »

Au laboratoire de M. URBAIN, c'est ce second antigène que nous avons employé.

Titrage de l'antigène

Tout antigène doit être titré avant l'usage au point de vue de son pouvoir anticomplémentaire et au point de vue de sa valeur antigène.

Voici, d'après URBAIN, le processus à suivre pour réaliser ces opérations :

A. — *Titrage du pouvoir anticomplémentaire* (absorbant ou empêchant)

Quelle que soit sa nature, tout antigène qui se trouve en excès, par rapport à la quantité d'alexine qui lui est opposée, est capable par lui seul, en l'absence d'anticorps, d'en fixer une quantité élevée.

Pour qu'une réaction de fixation soit valable, il est donc indispensable que l'alexine soit fixée sur l'antigène au moyen de l'anticorps à des doses où l'antigène, à lui seul, n'en fixe aucune quantité appréciable.

Avant de mettre en pratique une réaction de déviation, il faut donc déterminer la dose exacte où l'antigène devient absorbant pour la quantité de complément employé

pour produire l'hémolyse du complexe globules + sensibilisatrices, afin de n'employer cet antigène qu'à des doses inférieures, non absorbantes.

Pour effectuer ce titrage, on dilue l'antigène envisagé avec des quantités croissantes d'eau physiologique : $1/10$, $1/20$, $1/30$, $1/40$, etc. On prendra une quantité fixe de chacune de ces dilutions, soit 0,3 cc., qu'on mettra en présence de doses croissantes d'alexine, à partir de la dose minimum active.

On complète au volume total de 1,5 cc. avec de l'eau physiologique, on agite les tubes et on les laisse une heure à l'étuve à 37° . Au bout de ce temps de contact, on ajoute 1 cc. d'une émulsion de globules préalablement sensibilisés, c'est-à-dire qu'on aura ajouté, dans une quantité donnée d'émulsion de globules de mouton à 5 %, vingt doses (procédé CALMETTE) ou une à deux doses (procédé BESREDKA) minima de sérum hémolytique. Les tubes sont agités et reportés à l'étuve à 37° . Après un séjour d'une demi-heure on lit les résultats. Si, par exemple, les dilutions au $1/10$ et au $1/20$ exercent un pouvoir anti-complémentaire, elles doivent être écartées comme trop concentrées. On prendra donc, pour la réaction de fixation, la dilution au $1/30$ de l'antigène qui n'a pas de pouvoir empêchant vis-à-vis de la dose minimum active.

Exemple de titrage du pouvoir anticomplémentaire de l'antigène

N° des tubes	I Une heure d'étuve à 37°			II Globules sensibilisés	Résultats après 30 minutes d'étuve à 37°		
	Dilution de l'antigène à des taux variables	Alexine diluée à 1/20 active à 0,2	Eau physio.		Dilution de l'antigène à 1/10°	Dilution de l'antigène à 1/20°	Dilution de l'antigène à 1/30°
1	0,3 cc.	0,2 cc.	1 cc.	1 cc.	Pas d'hémol.	Pas d'hémol.	Hémolyse
2	0,3 »	0,3 »	0,9 »	1 »	»	Hémolyse	»
3	0,3 »	0,4 »	0,8 »	1 »	Hémolyse	»	»
4	0,3 »	0,5 »	0,7 »	1 »	»	»	»

B. — *Titrage de la valeur d'un antigène.*

La mesure du pouvoir d'un antigène se fait au moyen d'un sérum type dont on connaît la richesse en anticorps. Le titrage peut s'effectuer par les méthodes suivantes : 1° en faisant croître les doses d'alexine en présence d'une dose fixe d'antigène ; 2° en faisant croître les quantités d'antigène en présence d'une dose fixe d'alexine.

1° *Doses croissantes d'alexine, dose fixe d'antigène.*

Afin de ne pas être obligé d'employer de trop grandes quantités d'alexine, il est indispensable de prendre une dilution d'antigène assez étendue.

On fait agir une dose fixe de la dilution d'antigène, par exemple 1 cc. de la dilution à 1 % et une quantité fixe d'un sérum type (0,5 cc.) chauffé trente minutes à 55°, en présence de doses croissantes d'alexine à partir de la dose minimum active. Des tubes témoins reçoivent séparément l'antigène seul et le sérum seul, en présence des mêmes doses d'alexine. Le pouvoir anticomplémentaire du sérum ou de l'antigène ne se manifestant que sur de petites quantités d'alexine, on ne fait dans la pratique des tubes témoins pour le sérum et l'antigène qu'avec les trois premières doses d'alexine. On complète partout au volume total de 2,5 cc. avec de l'eau physiologique à 9 0/00. On agite chaque tube et on laisse les supports une heure à l'étuve à 37°. On les en retire pour ajouter le système hémolytique préalablement sensibilisé (1 cc. de l'émulsion de globules de mouton à 5 % auquel on ajoute le sérum hémolytique nécessaire). On secoue les tubes et on les remet une demi-heure à l'étuve à 37°. On lit alors les résultats énoncés au tableau ci-contre.

Si N est le nombre de doses minima d'alexine que peut dévier le volume d'antigène employé V, le rapport $\frac{N}{V}$ nous donnera la valeur de cet antigène en unité d'alexine fixée.

**Titrage de la valeur d'un antigène
par la méthode des doses croissantes d'alexine**

N ^{os} des tubes	I Une heure à l'étuve à 37°				II Globules sensibilisés	Résultats après 30 minutes d'étuve à 37°	
	Sérum chauffé	Antigène dilué à 1/100	Alexine diluée à 1/10 dose active 0,1	Eau physiol.			
1	0,5 cc.	1 cc.	0,1 cc.	0,9 cc.	1 cc.	Pas d'hémolyse	
2	0,5 »	1 »	0,2 »	0,8 »	1 »	»	
3	0,5 »	1 »	0,3 »	0,7 »	1 »	»	
4	0,5 »	1 »	0,4 »	0,6 »	1 »	»	
5	0,5 »	1 »	0,5 »	0,5 »	1 »	»	
6	0,5 »	1 »	0,6 »	0,4 »	1 »	»	
7	0,5 »	1 »	0,7 »	0,3 »	1 »	»	
8	0,5 »	1 »	0,8 »	0,2 »	1 »	»	
9	0,5 »	1 »	0,9 »	0,1 »	1 »	Hémolyse	
10	0,5 »	1 »	1 »		1 »	»	
Tém. sérum	Sér. 1	0,5 cc.		0,1 cc.	1,9 cc.	1 cc.	Hémolyse
	Sér. 2	0,5 »		0,2 »	1,8 »	1 »	»
	Sér. 3	0,5 »		0,3 »	1,7 »	1 »	»
Tém. antigène	An 1		1 cc.	0,1 cc.	1,4 »	1 cc.	Hémolyse
	An 2		1 »	0,2 »	1,3 »	1 »	»
	An 3		1 »	0,3 »	1,2 »	1 »	»

Dans l'exemple du tableau, l'antigène utilisé dont 0.01 cc dévie 8 doses minima d'alexine a pour valeur $\frac{8}{0.01} = 800$. L'unité de volume de cet antigène dévie 800 unités d'alexine.

Un deuxième antigène dont 0,01 cc. dévie deux doses minima d'alexine a pour valeur : $\frac{2}{0.01} = 200$. L'unité de

volume de cet antigène dévie 200 unités d'alexine ; il est donc quatre fois plus faible que le précédent.

Pourvu que le système hémolytique (hématies lavées et sérum hémolytique) reste constant, la valeur d'un antigène, déterminée en présence d'un sérum type, reste constante.

2° *Doses fixes d'alexine, doses croissantes d'antigène.*

On part d'une série de dix tubes dans chacun desquels on introduit la même dose d'un sérum à anticorps type, inactivé par un chauffage préalable de trente minutes à 55° et des doses variables : 0,1, 0,2, 0,3... 1 cc., de la dilution de l'antigène dont on veut déterminer la valeur. Chaque tube reçoit ensuite la même dose d'alexine, par exemple 0,05 cc. ; soit cinq doses minima, si 0,01 cc. représente la dose minimum active. On prépare des tubes témoins avec la dose fixe de sérum et une partie des doses croissantes d'antigène utilisées. On complète partout au volume de 2,5 cc. avec de l'eau physiologique à 9 0/00 ; on agite les tubes et on les porte à l'étuve à 37° pendant une heure. Après ce temps, on ajoute à chaque tube 1 cc. d'une émulsion de globules de mouton à 5 0/0, préalablement sensibilisée. On secoue les tubes, on les porte à nouveau à l'étuve à 37°, une demi-heure, et on procède ensuite à la lecture des résultats.

La valeur de l'antigène s'établit comme ci-dessus, par

N

le rapport —. Dans l'exemple du tableau ci-contre, le

V

**Titration de la valeur d'un antigène
par la méthode des doses croissantes d'antigène**

N° des tubes	I Une heure à l'étuve à 37°				II	Résultats après 30 minutes d'étuve à 37°
	Sérum chauffé	Antigène dilué à 1/100	Alexine diluée à 1/10 dose active = 0,1	Eau physiol.	Globules sensibilisés	
1	0,5 cc	0,1 cc.	0,5 cc.	1,4 cc.	1 cc.	Hémolyse
2	0,5 »	0,2 »	0,5 »	1,3 »	1 »	Pas d'hémolyse
3	0,5 »	0,3 »	0,5 »	1,2 »	1 »	»
4	0,5 »	0,4 »	0,5 »	1,1 »	1 »	»
5	0,5 »	0,5 »	0,5 »	1 »	1 »	»
6	0,5 »	0,6 »	0,5 »	0,9 »	1 »	»
7	0,5 »	0,7 »	0,5 »	0,8 »	1 »	»
8	0,5 »	0,8 »	0,5 »	0,7 »	1 »	»
9	0,5 »	0,9 »	0,5 »	0,6 »	1 »	»
10	0,5 »	1 »	0,5 »	0,5 »	1 »	»
Tém. sérum	0,5 cc		0,5 cc.	1,5 »	1 cc.	Hémolyse
Témoins antigène	A ₁	0,1 cc.	0,5 cc.	1,9 »	1 »	Hémolyse
	A ₂	0,2 »	0,5 »	1,8 »	1 »	»
	A ₃	0,3 »	0,5 »	1,7 »	1 »	»
	A ₄	0,4 »	0,5 »	1,6 »	1 »	»
	A ₅	0,5 »	0,5 »	1,5 »	1 »	»
	A ₆	0,6 »	0,5 »	1,4 »	1 »	»

$$\text{rapport} = \frac{N}{V} = \frac{5}{0,002} = 2.500; \text{l'unité de volume de l'antigène fixe } 2.500 \text{ unités d'alexine.}$$

Les émulsions de germes frais n'ont pas une valeur constante, il est donc nécessaire de les titrer chaque fois avant leur emploi. Les émulsions de germes tués par l'alcool-éther, les extraits (alcooliques ou glycélinés) sont beaucoup plus fixes ; ils peuvent être titrés une fois pour toutes au point de vue de leur pouvoir empêchant.

D. — Technique de la réaction

Pour exécuter la réaction de BORDET-GENGOU, la méthode de CALMETTE et MASSOL et la méthode de BESREDKA sont les plus couramment utilisées.

La première est basée : 1° sur le titrage rigoureux des éléments mis en présence ; 2° sur l'emploi de doses croissantes d'alexine, à partir de la dose minimum active qui a été fixée par le titrage. C'est une méthode très sensible et qui permet de titrer la richesse des sérums en anticorps, par l'appréciation du nombre d'unités d'alexine fixées.

La seconde jouit des mêmes avantages et, en outre, permet d'effectuer toutes les opérations de la réaction en un temps plus court. Comme c'est le procédé que nous avons employé, nous allons le décrire.

Méthode de Besredka

Elle consiste, comme la technique de CALMETTE et MASSOL, dans l'emploi de doses fixes d'antigène et de sérum à étudier inactivé, et de doses croissantes d'alexine, mais elle n'exige pas le titrage préalable de l'alexine ; d'autre part le système hémolytique est préparé suivant un procédé spécial.

On dispose les tubes nécessaires à la réaction en quatre séries sur un portoir à deux étages (voir tableau 1).

La première série, qui occupe la partie gauche de

TABLEAU I

Disposition de la réaction de fixation par le procédé de BESREDKA

Eau physiologique.....	0,8	0,7	0,6	0,5	0,7	0,6	0,5	0,4
Alexine diluée à 1/20.....	0,2	0,3	0,4	0,5	0,2	0,3	0,4	0,5
Antigène.....					0,3	0,3	0,3	0,3
Sérum à examiner inactivé 30 minutes à 50°...	0,2	0,2	0,2	0,2				

Témoins sérum

Témoins antigène

Eau physiologique.....	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,7	0,9	0,8	0,7
Alexine diluée à 1/20.....	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,3	0,3	0,4	0,5
Antigène.....	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3			
Sérum à examiner inactivé 30 minutes à 50°...	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2			

Tubes d'expériences

Témoins alexine

1°) Placer à l'étuve à 37° pendant une heure.

2°) Laisser une heure à la température du laboratoire.

3°) Ajouter dans chaque tube 1 cc. de l'émulsion de globules de mouton à 5 %, sensibilisés 20 min. avant l'emploi.

4°) Reporter à l'étuve pendant une demi-heure.

5°) Lire les résultats.

l'étage inférieur du portoir, comprend les 6 tubes d'expérience (sérum + antigène) ; chaque tube reçoit 0,2 cc. de sérum à examiner et 0,3 cc. d'antigène. La deuxième série possède quatre tubes, témoins sérum, disposés à l'étage supérieur et à gauche, en regard des quatre premiers tubes de la première série ; chaque tube ne reçoit que du sérum : 0,2 cc.

La troisième série, placée à droite du portoir, est formée de quatre tubes, témoins antigène, qui ne reçoivent pas de sérum, mais seulement 0,3 cc. d'antigène.

La quatrième série, également à droite du support, comprend quatre tubes, témoins alexine, ne recevant que de l'alexine.

Les tubes de ces deux dernières séries ne sont pas reproduits dans chaque réaction ; ils servent pour tous les sérums à examiner avec le même antigène et la même alexine.

Dans les tubes des quatre séries, on ajoute des doses croissantes d'alexine diluée à $1/20$; le premier tube de chaque série reçoit 0,2 cc., le deuxième 0,3 cc., le sixième 0,7 cc.

Pour chaque tube, le volume total est complété à 1,2 cc. avec de l'eau physiologique à 9 0/00.

On secoue les tubes et on les porte une heure à l'étuve à 37° , puis on les laisse un certain temps, une heure si possible, à la température du laboratoire.

Titration du sérum hémolytique et préparation du système hémolytique

Ces opérations s'effectuent pendant que le portoir est laissé à l'étuve.

Dans trois tubes à essai stériles A, B, C, l'on verse 9,5 cc. de sérum physiologique et 0,5 cc. d'hématies lavées de mouton. Puis les tubes A, B, et C reçoivent respectivement 0,05 cc., 0,10 cc., 0,15 cc. du sérum hémolytique ; celui-ci se trouve donc dilué à 0,5 0/0

TABEAU II

Titrage du sérum hémolytique dans le procédé de BESREDKA

A	B	C
Sérum hémolytique.....	0,10	0,15
Hématies lavées.....	0,5	0,5
Eau physiologique à 90/100.....	9,5	9,5
Taux du sérum hémolytique dans l'émulsion de globules à 1/20. ...		
0,5 0/0	1 0/0	1,5 0/0
Agiter ; laisser 15 à 20 minutes à la température du laboratoire		
	b	c
	b'	c'
Hématies sensibilisés.....	1	1
Eau physiologique.....	0,7	0,6
Alexine.....	0,2	0,3
Antigène.....	0,3	0,3

Agiter et placer à l'étuve à 37° pendant une demi-heure

dans le tube A, 1 0/0 dans le tube B, 1,5 0/0 dans le tube C (voir tableau 11). On secoue les tubes afin que le mélange soit bien homogène et on laisse ainsi quinze minutes environ, à la température du laboratoire, temps nécessaire à la sensibilisation des hématies.

On dispose sur un portoir six tubes à hémolyse, répartis en trois séries de deux tubes : a a', b b', c c'. Chaque tube reçoit d'abord 0,3 cc. d'antigène ; puis dans les premiers tubes (a, b, c,) de chaque série; on ajoute 0,2 cc. d'alexine et dans les seconds (a', b', c'), 0,3 cc. d'alexine. Enfin les tubes a et a' reçoivent chacun 1 cc. du contenu du tube A, b et b' 1 cc. du contenu de B, c et c' 1 cc. du contenu de C. Le volume total de chaque tube est ramené avec de l'eau physiologique à 2,2 cc. On agite les tubes, et on les porte une demi-heure à l'étuve à 37°. On lit ensuite les résultats, c'est-à-dire que l'on remarque le tube où l'hémolyse commence ; ce tube indique le taux où le sérum hémolytique sensibilise le mieux les globules de mouton en présence de l'alexine.

Si, dans l'exemple donné, l'hémolyse totale ne se manifeste qu'à partir des tubes a' et b, la sensibilisation de l'émulsion d'hématies par 0,5 0/0 de sérum hémolytique est insuffisante pour obtenir l'hémolyse vis-à-vis de 0,2 cc. d'alexine à 1/20 ; on emploiera donc la dilution à 1 0/0.

Ce taux connu, on prépare une émulsion d'hématies sensibilisées en quantité suffisante, de façon à en ajouter 1 cc. dans chaque tube de la série de réaction. Si, par exemple, elle comporte cent tubes, la dilution active du sérum hémolytique étant de 1 0/0, on verse dans un ballon stérile :

95 cc. de sérum physiologique à 9 0/100 ;

5 cc. d'hématies lavées ;

1 cc. de sérum hémolytique.

On peut sans inconvénient ajouter un petit excès de sérum hémolytique, porter sa dose à 1,2 cc. par exemple ; les réactions n'en seront que plus nettes.

L'émulsion préparée est laissée vingt minutes à la température du laboratoire, puis elle est répartie à raison de 1 cc. par tube. Après agitation des tubes et un séjour d'une demi-heure à l'étuve à 37°, on procède à la lecture des résultats. Elle se fait par une comparaison entre les tubes sérum + antigène et les tubes témoins ; une seconde lecture de contrôle est parfois utile après une heure de séjour au laboratoire.

Lors de sérum anticomplémentaire un ou deux tubes témoins sérum peuvent ne pas être hémolysés ; il faut alors tenir compte de cette absence d'hémolyse dans un nombre égal de tubes d'expérience du même sérum. Une remarque analogue peut être faite pour les tubes de contrôle alexine ou antigène qui ne seraient pas hémolysés.

Pour qu'une réaction soit positive, il faut que le nombre de doses d'alexine dévié par le mélange sérum + antigène soit supérieur à la somme des volumes d'alexine fixée par l'antigène et le sérum suspect séparément.

Dans le cas contraire, la réaction est négative.

Titrage des anticorps

L'évaluation quantitative des sensibilisatrices peut se faire facilement au moyen de la méthode de titrage de CALMETTE et MASSOL.

Définition de l'unité d'anticorps

Si un volume V du sérum étudié dévie N doses minima
N
d'alexine, le rapport $\frac{N}{V}$ représente le nombre de doses

minima d'alexine que peut dévier 1 cc. de sérum. Il en résulte que l'unité d'anticorps peut être représentée par la quantité d'anticorps capable de dévier une dose minimum d'alexine. Si, par exemple, dans une réaction, le mélange sérum + antigène a dévié quatre doses minima

d'alexine, alors que les tubes témoins sérum et antigène sont tous complètement hémolysés, le rapport

$$\frac{N}{V} = \frac{4}{0,2} = 20 ; 1 \text{ cc. de sérum dévie vingt unités d'alexine.}$$

Les divers sérums, éprouvés avec un même antigène et un même sérum hémolytique, suivant la même technique, peuvent être ainsi étalonnés et comparés entre eux, d'après le nombre d'unités d'alexine qu'ils dévient.

Quand ces essais se font avec des sérums d'animaux préparés, très riches en anticorps, pour éviter l'emploi de grandes quantités d'alexine, il est recommandé de faire des dilutions de ces sérums à 1/10, 1/100, etc., avec de l'eau physiologique ; chacune des dilutions est éprouvée vis-à-vis de doses croissantes d'alexine.

*
**

FINZI a employé, pour le diagnostic de la morve par la réaction de fixation, un procédé particulier. Il a diminué le nombre des éléments qui interviennent dans l'exécution de la réaction et prétend qu'ainsi la méthode donne moins de résultats douteux. Il utilise une « alexine hémolytique anti-cheval », constituée par du sérum frais de cobayes, qui ont été immunisés contre les globules de cheval ; ce sérum hémolytique anti-cheval serait très actif contre les hématies de cheval.

Ce procédé réduit les éléments nécessaires à la réaction de déviation du complément à quatre :

- 1° Antigène ;
- 2° Sérum à examiner ;
- 3° Alexine hémolytique anti-cheval ;
- 4° Emulsion d'hématies de cheval à 10 0/0 dans de l'eau physiologique.

Malléinations et anticorps morveux

Pour assurer une détection plus minutieuse de la morve, nombre d'auteurs voulurent associer la malléination et la réaction de BORDET-GENGOU ; ils observèrent rapidement que l'injection de malléine produit un accroissement du taux des sensibilisatrices chez les chevaux morveux, et parfois une apparition d'anticorps malléiniques chez les chevaux sains.

MIESSNER et TRAPP, en 1909, signalèrent les premiers cette surproduction d'anticorps dans le sérum de chevaux, morveux ou non, après l'inoculation de malléine, et montrèrent qu'elle peut être la cause d'erreurs.

CIUCA, en 1910, indiqua l'existence d'anticorps malléiniques dans le sang des animaux de laboratoire traités par la malléine.

ZURKAN (1911), MARCIS (1912) et BUXTON (1914) firent, sur des chevaux, des constatations analogues.

ROBINSON signala, en 1918, qu'après avoir essayé d'associer la fixation de l'alexine et la malléination, pour le diagnostic de la morve, il dut bientôt abandonner la première méthode, par suite de l'inexactitude des résultats obtenus chez les chevaux qui avaient été malléinés antérieurement ; ceux-ci donnaient toujours des réactions de déviation positives.

KELSER et HARDENBERG, en 1920, recherchèrent l'influence de l'intra-dermo-malléination sur les anticorps morveux. D'après ces auteurs, l'injection intra-dermique de 0,1 cc. de malléine, diluée au quart, provoque l'apparition de sensibilisatrices chez 83 o/o des animaux qui n'ont jamais été malléinés et chez 33 o/o de ceux qui ont été éprouvés à la malléine antérieurement.

BROCQ-ROUSSEU, FÔRGEOT et URBAIN (1921) étudièrent

systématiquement l'influence des injections de malléine dans l'organisme sain. Ils établirent ce qui suit :

A) *Chez le cheval*

1° L'injection intra-dermique de 0,1 cc. de malléine au quart, répétée quatre fois, à intervalles réguliers, n'a donné lieu à l'apparition d'anticorps que dans deux cas sur cinq, soit dans une proportion de 40 o/o.

2° Une première injection sous-cutanée de 2,5 cc. de malléine au dixième fait apparaître une sensibilisatrice dans le sang de quatre chevaux sur cinq, soit dans une proportion de 80 o/o. Après une deuxième injection, les anticorps apparaissent d'une façon constante.

3° Les chevaux qui ne possèdent pas d'anticorps après quatre malléinations palpébrales successives, en présentent quatre jours après une malléination sous-cutanée ; ils reçoivent, en effet, dans ce cas, une dose de malléine brute deux fois supérieure à celle des premières injections.

4° Les anticorps formés dans l'organisme, soit après une intra-dermo-malléination, soit après une malléination sous-cutanée, apparaissent du quatrième au huitième jour après l'injection de malléine. Ils disparaissent toujours après le quarante-cinquième jour.

5° Le taux moyen des anticorps le plus élevé a été de 25 unités. Une seule fois, exceptionnellement, ce taux a atteint 80. Le taux de la sensibilisatrice provoquée par l'injection de malléine est donc généralement faible chez le cheval sain.

B. — *Chez le mulet.*

Une injection intra-dermique de 0,1 cc. de malléine au quart ou de 2,5 cc. de malléine au dixième fait apparaître, dans tous les cas, une sensibilisatrice spécifique.

Les anticorps formés dans l'organisme atteignent toujours un taux très élevé (400 à 1500 unités).

Le temps nécessaire pour que ces anticorps disparaissent est variable.

URBAIN (1927) montra en outre que, de même que la tuberculine chez les animaux tuberculeux, la malléine « augmente d'une façon très notable le taux des anticorps chez les animaux morveux ». Il conclut que, pratiquement, si l'on veut associer la déviation du complément à la malléine, dans le diagnostic de la morve :

« a) Chez le cheval, il faut prendre le sang avant la malléination ou bien avant le quatrième jour qui suit l'épreuve, ou attendre quarante-cinq jours après la malléination.

« b) Chez le mulet, il faut prélever le sang avant l'injection de malléine ou bien avant le cinquième jour qui suit la malléination, s'il s'agit d'une première épreuve, ou avant le troisième si l'animal a déjà reçu une ou plusieurs injections de malléine. Il faudra attendre ensuite au moins cent treize jours après la malléination, pour pouvoir prendre utilement du sérum. »

*
* *

Au cours de nos expériences, nous avons eu l'occasion de confirmer les conclusions de BROCC-ROUSSEU, FORGEOT et URBAIN. Notre observation II (chapitre V) montre en effet que des sensibilisatrices malléiniques peuvent apparaître chez le cheval sain à la suite d'injections de malléine. Les observations II et III vérifient que les anticorps n'apparaissent pas certainement dans le sérum du cheval sain après une seule injection intradermique de 0,1 cc. de malléine au quart et une inoculation sous-cutanée de 2,5 cc. de malléine au dixième ; mais si l'injection hypodermique est répétée, il y a apparition d'anticorps.

Enfin le tableau de l'observation I indique combien le taux des sensibilisatrices augmente chez un cheval morveux, à la suite d'injections de malléine.

Valeur comparée de la malléine et de la réaction de fixation dans la recherche de la Morve

En ce qui concerne la valeur comparée de la malléine et de la réaction de BORDET-GENGOU dans le diagnostic de la morve, les opinions varient selon les auteurs.

MIESSNER et TRAPP estiment que la réaction de déviation du complément dénonce la morve dans 90 o/o des cas.

OLGA R. POVITSKY, opérant sur un effectif de 2000 chevaux, essaya à la fois l'agglutination, la réaction de fixation et l'intra-dermo-malléination. Dans 124 cas de morve confirmés par l'autopsie l'agglutination donna 64,2 o/o, la fixation de l'alexine 76,6 o/o, l'intra-dermo-malléination 87,8 o/o de réactions positives.

Pour POPPE, la réaction de BORDET-GENGOU possède une valeur diagnostique supérieure à la malléination.

FINZI affirme la supériorité de la malléine sur la réaction de fixation pour le diagnostic expérimental de la morve.

AMIOT, ayant eu à combattre pendant la guerre 1914-1918 une importante épidémie de morve sur des chevaux et mulets, a utilisé la réaction de BORDET-GENGOU. D'après cet auteur, la valeur de cette méthode varie avec la forme clinique de la maladie : « ... de valeur nulle dans la morve cliniquement caractérisée, dans tous les autres cas elle s'est montrée l'égale de la malléination sous-cutanée, s'élevant alors nettement au-dessus de l'intra-dermo-réaction. »

Au point de vue valeur diagnostique, URBAIN estime que la réaction de fixation décèle la morve dans un plus grand nombre de cas que la malléine.

a) *Chez le cheval.* — Au cours de nos recherches, nous avons constaté que malléine et fixation de l'alexine donnent des résultats généralement concordants.

La malléination, et particulièrement l'intra-dermo-palpébro-malléination, est une méthode de haute valeur, simple, rapide, à la portée de tous les praticiens. *Elle reste le véritable mode de recherche de la morve dans les effectifs.*

La réaction de déviation de complément constitue en soi une excellente méthode de diagnostic de la morve, et elle décèle les anticorps morveux avec un très fort pourcentage. Il est certain que, parmi les procédés sérologiques de diagnostic, la fixation de l'alexine est de beaucoup le plus recommandable : outre sa grande valeur intrinsèque, elle n'exige, comme antigène, que l'emploi de cultures tuées, donc anodines ; au contraire, dans l'agglutination, il faut recourir à des germes vivants dont la manipulation expose le sérologue à un réel danger. Mais il faut reprocher à la réaction de BORDET GENGOU sa complexité ; elle n'est pas à la portée du praticien : elle exige de sérieuses connaissances sérologiques et trop de matériel. *Elle sera donc réservée seulement aux cas d'animaux donnant des réactions malléiniques douteuses ou contradictoires.*

Chez ces chevaux malléinés antérieurement, il faudra naturellement observer les règles posées par URBAIN, relatives aux prélèvements de sang.

b) *Chez le mulet.* — On a beaucoup discuté la valeur diagnostique de la malléine chez cet animal.

Beaucoup d'auteurs : CABAYÉ, COLLE, LAMARQUE, l'accusent d'un plus grand nombre de défaillances que chez les équidés. Nous n'avons pas eu l'occasion d'observer des cas de morve chez le mulet ; néanmoins nous pensons que la réaction de fixation constitue une méthode de recherche du processus morveux aussi certaine chez cet animal que chez le cheval ; elle rendra alors dans ce cas de précieux services.

CHAPITRE V

OBSERVATIONS (1)

OBSERVATION I

« Blanc Bec » cheval hongre, pur-sang, bai.

3 novembre 1927: Malléination intra-palpébrale par M. S..., vétérinaire à Maisons-Lafitte; réaction douteuse, mais plutôt positive.

5 novembre. — Première malléination sous-cutanée par M. S...

Réaction thermique: $2^{\circ}3$ ($T = 40^{\circ}5$; $t_0 = 37^{\circ}7$).

Réaction locale: œdème étendu et douloureux, persistant quatre jours.

A la suite de cette réaction positive le cheval est envoyé au Service des maladies contagieuses de l'Ecole d'Alfort. Il ne présente aucun signe clinique de morve.

3 janvier, à 21 heures: Seconde malléination sous-cutanée:

Réaction thermique $1^{\circ}7$ $T = 39^{\circ}5$ à la quatorzième heure.

$t_0 = 37^{\circ}8$.

Réaction générale accusée.

Réaction locale: œdème chaud, sensible, 14 cm. de diamètre, persistant de la douzième à la trente-sixième heure.

6 janvier, à 7 heures: Hypodermo-malléination seconde par injection d'une double dose (5 cc. de malléine à 1/10).

Réaction thermique: $3^{\circ}2$ $T = 40^{\circ}7$ à la dixième heure.

$t_0 = 37^{\circ}5$.

Réaction générale: prostration, inappétence.

Réaction locale: plaque œdémateuse, chaude et douloureuse, 16 cm. de diamètre, persistant de la sixième à la vingt-quatrième heure.

23 janvier à 21 heures: Troisième malléination hypodermique.

Réaction thermique: $1^{\circ}5$ $T = 38^{\circ}9$ à la quatorzième heure.

$t_0 = 37^{\circ}4$.

Réaction générale: nulle.

Réaction locale: faible.

26 janvier, à 7 heures: Malléination hypodermique seconde (2,5 cc. de malléine à 1/10).

Réaction thermique: $1^{\circ}6$ $T = 38^{\circ}7$ à la dixième heure.

$t_0 = 37^{\circ}1$.

Réaction générale: faible.

Réaction locale: œdème assez étendu, mais fugace.

(1) C'est grâce à l'amabilité de M. URBAIN, Directeur du Laboratoire militaire des Recherches vétérinaires, que nous possédons les observations IV, V et VI. Qu'il trouve ici l'hommage de notre profonde reconnaissance.

Tableau indiquant la variation du taux des anticorps
dans le sérum du cheval morveux « Blanc-Bec » à la suite d'injections de malléine

N° des PECADONS	Injection de malléine à 4/10	Dose	Date du prélèvement de sang	Temps écoulé depuis la dernière injection de malléine	Résultat de la réaction de fixation	Taux des anticorps
1	5 novembre	2,5 cc.	5 décembre	30 jours	positif	> 30 unités
2			14 —	39 —	—	> 30 —
3	3 janvier	2,5 cc.				
	6 —	5 cc.	9 janvier	3 —	—	150 —
4			23 —	17 —	—	100 —
5	23 janvier	2,5 cc.				
	26 —	2,5 cc.	30 janvier	4 —	—	350 —
6			7 février	12 —	—	350 —
7			28 —	33 —	—	150 —
8			12 mars	45 —	—	25 —
9			20 —	53 —	—	25 —
10			23 avril	87 —	—	15 —

24 avril, à 21 heures : Quatrième hypodermo-malléination et intra-dermo-palpébro-malléination.

1° Réaction palpébrale : paupière tuméfiée ; muco-pus à l'angle interne de l'œil.

2° Réaction thermique : 1°I ; $T = 38^{\circ}7$ à la seizième heure.

$t_0 = 37^{\circ}6$.

Réaction générale : nulle.

Réaction locale : faible.

27 avril, à 7 heures : Malléination hypodermique seconde par injection d'une double dose (5 cc. de malléine à 1/10).

Réaction thermique : $1^{\circ}8$; $T = 39^{\circ}4$ à la treizième heure.

$t_0 = 37^{\circ}6$.

Réaction générale : prostration accentuée.

Réaction locale : œdème douloureux, de 15 cm. de diamètre, persistant vingt-quatre heures.

OBSERVATION II

Jument « Ciboulette », douze ans, 1 m. 54, alezan, envoyée à l'Ecole d'Alfort pour suspicion de morve.

Aucun signe clinique.

18 juillet 1927 : Malléination sous-cutanée (2,5 cc. malléine).

Réaction thermique : $0^{\circ}7$ ($T = 38^{\circ}2$; $t_0 = 37^{\circ}5$).

Réaction générale : nulle.

Réaction locale : œdème léger, ni douloureux, ni persistant.

Donc, réaction négative.

21 juillet : Hypodermo-malléination seconde par injection d'une double dose de malléine (5 cc.).

Réaction thermique : $1^{\circ}9$ ($T = 40^{\circ}$; $t_0 = 38^{\circ}1$).

Plateau au-dessus de $39^{\circ}4$ de la sixième à la quatorzième heure.

Réaction générale : léger abattement.

Réaction locale : œdème peu étendu, sensible, persistant vingt-quatre heures.

La réaction est douteuse.

16 octobre : Prélèvement de sang par ponction de la veine jugulaire. La réaction de fixation, pratiquée le 19, est négative.

3 novembre : Deuxième malléination sous-cutanée (2 cc. 5 de malléine).

Réaction thermique : $0^{\circ}8$ ($T = 38^{\circ}4$, $t_0 = 37^{\circ}6$).

Réaction générale : nulle.

Réaction locale : nulle.

Le cheval n'a pas réagi.

7 novembre : Malléination seconde par double dose (5 cc.).

Réaction thermique : 0°5 (T = 38°3 ; t₀ = 37°8).

Réaction générale : nulle.

Réaction locale : œdème peu étendu, douloureux, disparaît le lendemain.

7 novembre : Deuxième prélèvement de sang avant l'inoculation de malléine. La réaction de déviation du complément pratiquée le 9 est négative.

14 novembre : Troisième prise de sang. Le sérum recueilli et inactivé est placé à la glacière. Le 23 novembre, la réaction de fixation est fortement positive.

L'animal ne présente aucun symptôme clinique de morve ; il n'a pas réagi aux diverses épreuves malléiniques ; les deux premières réactions de fixation (les seules qui aient une valeur diagnostique) ont été négatives. La suspicion de morve est donc écartée et l'animal est rendu à son propriétaire.

OBSERVATION III

Jument, quatre ans, 1 m. 57, gris fer, provenant de chez un marchand de chevaux et envoyée à la clinique d'Alfort parce qu'elle est atteinte d'un jetage unilatéral, purulent, grisâtre, fétide ; les ganglions sous-glossiens sont hypertrophiés et indurés, l'état général d'entretien est médiocre. Ces signes morbides rendent l'animal suspect de morve.

4 novembre 1927 : Intra-dermo-palpébro-malléination à 9 heures ; hypo-dermo-malléination à 21 heures. Cette double épreuve est négative.

7 novembre : Prélèvement de sang ; la réaction de fixation est négative.

14 novembre : Seconde prise de sang. Le sérum inactivé à 60° est conservé à la glacière une semaine. La réaction de BORDET-GENCOU pratiquée le 23 novembre est négative.

Les épreuves diagnostiques (deux malléiniques et une sérique) restant négatives, on procède à un examen clinique minutieux de la cavité buccale ; il révèle une communication de la bouche et des sinus maxillaires : le diagnostic de sinusite d'origine dentaire est posé.

OBSERVATION IV

Cheval « Raglan » n° m^{le} 1793, né en 1917, envoyé à l'Ecole de Saumur, en provenance du dépôt de remonte d'Alençon.

28 octobre 192. : Première malléination intra-dermique :

Réaction nulle.

22 novembre : Deuxième intra-dermo-malléination :

Réaction nulle.

28 novembre : Troisième intra-dermo-malléination : réaction douteuse, disparue au bout de quarante-huit heures.

Isolement au lazaret.

4 décembre : Première hypodermo-malléination :

Réaction thermique : 1°2.

Réaction générale : nulle.

Réaction locale : discrète, disparue le troisième jour.

18 janvier : Prise de sang. Envoi du sérum au Laboratoire militaire des Recherches vétérinaires : Déviation du complément très positive.

21 janvier : Deuxième hypodermo-malléination :

Réaction thermique : 0°9.

Réaction générale : nulle.

Réaction locale : discrète, disparue le troisième jour.

7 mars : Prise de sang. Envoi du sérum au Laboratoire militaire des Recherches vétérinaires. Déviation du complément positive.

11 mars : Troisième hypodermo-malléination.

Réaction thermique : 0°5.

Réaction générale : nulle.

Réaction locale : œdème de 18 cm. de diamètre, 1 cm. d'épaisseur, disparu en vingt-quatre heures.

Aucun symptôme clinique de morve.

En raison des réactions sérologiques indiquant l'existence de morve, le cheval « Raglan » est sacrifié.

Résultats de l'autopsie : Aucune lésion de la peau, des muqueuses explorables, des ganglions lymphatiques sous-cutanés.

Lésions de pleurésie chronique : la plèvre viscérale de la face diaphragmatique de chacun des deux lobes pulmonaires présente de nombreux filaments, organisés, blanchâtres, sur une étendue de 2 dm² environ ; la séreuse est épaissie à leur niveau.

Lésions pulmonaires : Elles consistent dans trois petits noyaux de pneumonie lobulaire découverts dans l'épaisseur du parenchyme, à un centimètre de profondeur en dessous de la surface diaphragmatique du lobe postérieur droit ; ils ont le volume d'une noisette et l'aspect hémorragique ; à la palpation ils donnent la sensation de noyaux denses et durs ; leur incision ne laisse sourdre aucun liquide et montre une structure macroscopique homogène ; leur contour, mal défini, se confond peu à peu avec le parenchyme sain.

Lésions ganglionnaires : L'incision des ganglions bronchiques révèle quatre petites zones hémorragiques, succulentes et irrégulières, mais on ne trouve pas de tubercules.

Conclusion : De la constatation de lésions de pleurésie chronique,

de foyers de pneumonie et d'hémorragies ganglionnaires, il résulte que la suspicion de morve, dont a été l'objet le cheval « Raglan » de son vivant, est confirmée par l'autopsie.

L'examen histologique des lésions pulmonaires a montré l'aspect ordinaire des tissus de tubercules morveux : foyer caséeux central entouré par deux couches distinctes : l'une interne à grosses cellules, l'autre externe composée de faisceaux conjonctifs et d'artérioles.

OBSERVATION V

Cheval hongre « Gliss » n° m^{le} 1348, six ans, 1 m. 58, alezan.

27 mai 192. : Première intra-dermo-palpébro-malléination à l'œil gauche ; réaction atypique : conjonctive injectée, larmolement.

30 mai : Deuxième intra-dermo-malléination de contrôle à l'œil droit ; réaction : œdème diffus, légèrement chaud et sensible, limité à la paupière inférieure et persistant pendant trois jours ; aucune réaction thermique générale.

Ces deux réactions sont donc atypiques.

2 juin. — Première malléination sous-cutanée :

1^o Réaction thermique : 1^o9 T = 39°8 ; t^o = 37°9.

Plateau de la huitième à la seizième
heure.

2^o Réaction générale : nulle.

3^o Réaction locale : a) Etendue : une main d'homme ;

b) Caractères : chaude, sensible, 2 cm. d'épaisseur ; trois traînées lymphatiques en partie déclive ;

c) Durée : trois jours avec atténuation graduelle.

Ces résultats rendent le cheval suspect de morve ; il ne présente aucun symptôme.

3 juin : Prise de sang. Déviation du complément positive.

18 juillet : Deuxième malléination sous-cutanée :

1^o Réaction thermique : 2^o T = 39°3 ; t^o = 37°3.

Plateau au-dessus de 39° de la douzième à la vingt-deuxième heure.

2^o Réaction générale : nulle.

3^o Réaction locale : a) Etendue : paume de la main ;

b) Caractères : chaude, peu douloureuse, 2 cm. d'épaisseur ;

c) Durée : disparition totale en deux jours.

17 novembre : Troisième hypodermo-malléination.

1^o Réaction thermique : 1^o5 T = 38°9 ; t^o = 37°4.

Plateau au-dessus de 38°6 de la dixième à la quatorzième heure.

2^o Réaction générale : nulle.

3^o Réaction locale : a) Étendue : 25 cm. sur 15 cm.

b) Caractères : œdème peu chaud, insensible ; 3 cm. d'épaisseur.

c) Durée : l'œdème apparaît à la dixième heure et disparaît de la vingt-quatrième à la trente-sixième heure.

Aucun symptôme clinique de morve ; bon état d'entretien.

24 décembre : Abatage du cheval « Gliss ».

Résultats de l'autopsie : Aucune lésion de la peau et des muqueuses explorables.

Quelques adhérences pleurales existent entre les lobes apicaux droit et gauche et le médiastin antérieur.

A l'examen et la palpation du poumon, on découvre deux tubercules gris, translucides. L'un siège à la face externe du lobe postérieur du poumon gauche, à une distance de 8 cm. du bord libre ; l'autre se trouve dans le lobe apical droit, à 4 cm. de la pointe, à 1 cm. du bord libre, sur la face dorsale du viscère. Ces deux tubercules sont situés immédiatement sous la plèvre qu'ils soulèvent légèrement ; ils mesurent 3 millimètres de diamètre, sont grisâtres, et compacts à la palpation. En outre il existe trois petits foyers hémorragiques, de la dimension d'une lentille, dans la partie superficielle du parenchyme pulmonaire.

Donc lésions de morve pulmonaire.

OBSERVATION VI

« Siamoise », jument, n° m^{le} 468, 22 ans, 1 m. 51, alezan, balzane postérieure gauche, du 30^e R. A. D. Aucun signe clinique de morve.

18 février : Intra-dermo-malléation, œil gauche.

Un œdème volumineux s'est développé progressivement dans l'après-midi du 18 et le 19 ; il a gagné la paupière supérieure ; il est chaud, douloureux et a provoqué l'occlusion totale de l'œil qui laisse écouler un muco-pus abondant. Une hyperthermie de 0°8 est notée ($T = 38°4$; $t_0 = 37°6$) ; pas de réaction générale. Dans la journée du 20, l'œdème régresse, la température redevient normale. L'épreuve est donc positive.

20 février : Prélèvement de sang. Au sérum récolté on ajoute 2 % de phénol. La réaction de fixation pratiquée le 29 février est positive (100 unités d'alexine fixée).

Le cheval est abattu et l'autopsie révèle l'existence de morve pulmonaire.

DEUXIÈME PARTIE

NOUVELLES RELATIONS ENTRE LA MORVE ET LA MÉLIOIDOSE

LA RÉACTION DE FIXATION DANS LA MORVÉ

au moyen de l'antigène à *Bacillus Whitmori*

La mélioïdose (STANTON et FLETCHER) est une affection exotique (Indes anglaises et hollandaises, Birmanie, Siam, Cochinchine) virulente, inoculable, commune à l'homme et aux animaux (cheval, chien, chat, lapin, cobaye, rat). Elle est caractérisée par une septicémie à localisations diverses et par des lésions qui ressemblent étrangement aux altérations morveuses. Elle est due à un germe très voisin du bacille morveux : *Bacillus pseudo-mallei* ou *Bacillus Whitmori*.

Nous avons recherché si le sérum d'un cheval morveux fixait l'alexine en présence d'un antigène obtenu avec le bacille de WHITMORE et à quel taux se produisait cette fixation par rapport à l'antigène morveux spécifique.

a) *Procédé utilisé.* — Ce fut la technique classique de BESREDKA aux hématies sensibilisées. Le sérum en expérience est chauffé trente minutes à 60°, température nécessaire à la destruction de certaines substances anti-complémentaires.

b) *Préparation de l'antigène paramorveux.* — Des cultures de huit jours en bouillon MARTIN (Ph 7,2) sont stérilisées par chauffage de trente minutes à la température de 115°, centrifugées et lavées. Le culot de centrifugation, conservé à la glacière sans addition d'antiseptique, est prélevé au moment de l'emploi.

L'antigène, essayé du point de vue spécial de ses propriétés anticomplémentaires, est représenté par une dilution de quatre centigrammes de corps microbiens dans vingt centimètres cubes de sérum physiologique.

c) *Résultats obtenus.* — 1° Le sérum du cheval « Blanc-Bec » authentiquement morveux, mais ne présentant point de signes cliniques (malléination positive avec réaction thermique intense, réaction générale nette et réaction locale très marquée) dévie le complément avec la même force (plus de trente unités d'anticorps) en présence de l'antigène spécifique et de l'antigène paramorveux. — 2° Au même cheval, nous inoculons à diverses reprises un extrait de culture de bacilles paramorveux. Quatre jours après une dernière injection sous-cutanée de 2 cc. d'extrait, nous lui prélevons du sang et pratiquons la réaction de BORDET-GENGOU sur ce sérum. Elle est positive et le taux des anticorps décelés est de 250 unités tant avec l'antigène à *Bacillus Whitmori* qu'avec l'antigène morveux.

Ces faits, qui rapprochent du point de vue sérologique morve et mélioïdose, confirment les travaux de STANTON et FLETCHER sur les sérums de lapins expérimentalement infectés avec l'un ou l'autre microbe et mettent nettement en lumière la communauté d'antigènes des deux germes.

LES RÉACTIONS DE L'ORGANISME ÉQUIN, MORVEUX OU NON,

aux injections de Whitmorine

Nous avons recherché également si les produits dérivés de la culture de *Bacillus Whitmori* provoquaient des réactions après injection :

1° Dans l'organisme équin sain ;

2° Dans l'organisme équin atteint de morve naturelle.

Préparation de l'extrait de cultures de Bac Whitmori.

— Des cultures de cinq semaines en bouillon MARTIN sont stérilisées par chauffage à 115° pendant trente minutes et centrifugées. Le liquide surnageant est décanté aseptiquement à la pipette et conservé à la glacière pendant quatre jours, jusqu'au moment de l'emploi. Nous avons expérimenté cet extrait stérile, la *Whitmorine*, sans le diluer.

1° Whitmorine et organisme sain

Observation 1 : Cheval d'opérations, hors d'âge.

23 juin : Inoculation intra-dermique de :

a) 1/10 cc. de malléine diluée au quart dans la paupière inférieure gauche ; réaction nulle.

b) 1/10 cc. de whitmorine dans la paupière inférieure droite : réaction nulle.

Observation 2 : Cheval d'opérations, hors d'âge :

23 juin : Insertion intra-palpébrale de :

a) 1/10 cc. de malléine au quart à l'œil gauche, réaction nulle ;

b) 1/10 cc. de whitmorine à l'œil droit ; tuméfaction légère et insensible vers la sixième et la huitième heure ; à la dixième heure, plus rien ; donc réaction nulle.

2' Whitmorine et organisme morveux

Observations : Cheval « Blanc-Bec » atteint de morve occulte.

23 juin : Injection palpébrale de :

a) 1/10 cc. de bouillon MARTIN (Ph 7,2) à l'œil droit : aucune réaction.

b) 1/10 cc. de whitmorine à l'œil gauche : à la quatrième heure, formation d'un bourrelet œdémateux qui se développe progressivement jusqu'à la douzième heure ; il est alors étendu, chaud, sensible et a 2 cm. d'épaisseur ; du muco-pus s'écoule de l'angle interne. De la douzième à la trentième heure, cet œdème se résorbe lentement.

27 juin : Inoculation intradermique de 1/10 de cc. de whitmorine au côté droit de l'encolure dont un placard de peau a été au préalable rasé et aseptisé. Une tuméfaction œdémateuse apparaît vers la cinquième heure. Après la sixième heure l'œdème est étendu, douloureux, et il en part un gros cordon lymphatique qui se dirige vers l'épaule. Cette réaction persiste jusqu'à la trente-sixième heure.

29 juin : a) Whitmorination intra-dermique seconde (1/10 cc.) au côté droit de l'encolure. La réaction, quoique marquée, est un peu moins intense que la précédente.

b) Inoculation intra-palpébrale de 1/10 de cc. de whitmorine à l'œil droit. A partir de la sixième heure, bourrelet œdémateux, volumineux et sensible, accompagné de conjonctivite et de photophobie ; un muco-pus abondant s'écoule sur le chanfrein ; légère prostration. La réaction persiste toute la journée du lendemain.

6 juillet, à 21 heures : Injection hypodermique de 2 cc. de whitmorine :

Réaction thermique : $1^{\circ}4$ $T = 39^{\circ}1$ à la 15^e heure.
 $t_0 = 37^{\circ}7$.

Réaction générale : prostration accusée ;

Réaction locale : plaque d'œdème de 16 cm. de diamètre, chaude, sensible, durable.

Ces expériences nous autorisent à conclure que la whit-morine, au même titre que la malléine, est sans action marquée sur l'organisme sain; tandis que chez le cheval morveux elle provoque une réaction caractéristique, se traduisant par des signes locaux et généraux, et dont l'intensité et la durée sont comparables à la réaction malléinique.

STANTON, FLETCHER et SYMONDS ont étudié, en 1927, le seul cas jusqu'ici connu de mélioïdose spontanée du cheval et la malléination resta constamment négative.

C'est là un fait curieux puisque, d'après PONS, l'homme atteint de mélioïdose réagit à l'inoculation intradermique d'une malléine diluée à 1/10 et que, d'autre part, nous avons montré que l'injection d'extrait de bacille de WHITMORE au cheval morveux s'accompagne d'une réaction thermique et d'une réaction locale.

CONCLUSIONS

PREMIÈRE PARTIE

Etude expérimentale sur la morve

Les moyens d'investigation de la clinique se révèlent, dans la majorité des cas, insuffisants pour la recherche de la morve ; il en ressort toute l'importance des méthodes expérimentales de diagnostic.

1° La malléination sous-cutanée est un excellent procédé diagnostique ; il est assez long et exige des précautions. La réaction locale est plus significative qu'on ne le pensait autrefois ; bien caractérisée, elle est pathognomonique.

2° L'intradermo-palpébro-malléination est la méthode la plus pratique, la plus simple, la plus rapide ; en outre, elle est très sensible. Elle constitue le meilleur procédé de recherche de la morve dans les effectifs. Son résultat est quelquefois d'une interprétation délicate.

3° Après une malléination sous-cutanée douteuse, on emploiera avantageusement la *malléination hypodermique seconde par double dose*. L'inoculation sera pratiquée le matin et la réaction notée le jour même : l'animal morveux réagit, en effet, d'une façon précoce et accélérée à cette seconde interrogation ; ces particularités paraissent liées à un état d'allergie créé par l'infection morveuse et modifié par la première insertion de malléine.

4° Les injections de malléine ne provoquent pas l'apparition de *bacillus malléi* dans le sang du cheval atteint de morve occulte.

5° La réaction de BORDET-GENGOU appliquée au diagnos-

tic de l'infection morveuse a une grande valeur intrinsèque. Elle est supérieure aux autres procédés sérologiques et a aussi l'avantage de n'utiliser que des germes tués.

Peut-être plus sensible que la malléation, elle est beaucoup plus complexe et restera du domaine du laboratoire. Elle rend cependant de précieux services, chez le cheval, lors de malléations douteuses ou contradictoires, et chez le mulet où la malléine a des défaillances.

6° Le sérum suspect, à examiner par la fixation de l'alexine, peut être conservé longtemps (plus d'un mois) soit à la glacière, soit par l'addition de certains antiseptiques. Nous préconisons surtout l'addition de 2 o/oo d'acide phénique ou de 0,5 o/o d'acide borique; le formol est à rejeter.

DEUXIÈME PARTIE

Nouvelles relations entre la morve et la mélioïdose

La mélioïdose (STANTON et FLETCHER) est une affection exotique, virulente, inoculable, commune à l'homme et aux animaux. Elle est caractérisée par une septicémie à localisations diverses et par des lésions qui ressemblent aux lésions morveuses. Elle est due à un bacille voisin du bacille morveux : *Bacillus Whitmori*.

1° Le sérum d'un cheval naturellement infecté de morve fixe l'alexine avec la même intensité en présence d'un antigène morveux ou d'un antigène à *Bacillus Whitmori*.

2° Un cheval atteint de morve réagit à l'inoculation intra-dermique de 1/10 de cc. d'un extrait d'une culture de bacilles paramorveux et à l'injection hypodermique

de 2 cc. de cet extrait. Les réactions, comme celles consécutives aux insertions de malléine, se traduisent par des signes locaux et généraux, et sont tardives, progressives et durables.

Dans l'organisme équin sain, l'inoculation de cet extrait ne provoque pas de réaction.

Vu : Vu :

Le Doyen, *Le Président,*

H. ROGER. A. LEMIERRE.

Vu et permis d'imprimer :

Pour le Recteur de l'Académie de Paris,

L'Inspecteur de l'Académie,

MAURELLET.

BIBLIOGRAPHIE

- AMIOU (R). — La déviation du complément dans le diagnostic des cas douteux de morve : *Bⁿ Soc. Centrale Méd. Vétér.*, 6 juil. 1922, p. 326.
- ARMAND-DELILLE et LAUNOY. — Stabilisation des hématies par des doses minimales de formol : *C. R. Soc. Biol.*, 2 juillet 1910, p. 40.
- ARMAND-DELILLE et NÈGRE (L.). — Technique de la réaction de déviation du complément de Bordet et Gengou : Masson et C^{ie}, éditeurs, Paris, 1922.
- AUJESZKY. — Après combien de temps une seconde injection de malléine se produit-elle après une première ? : *Allatorvosi Lapok*, 26 juin 1909, n^o 26, p. 309 ; in *Rev. génér. Méd. Vétér.*, 1910, T. XV, p. 330.
- BLANC. — *Bⁿ de la Soc. de Méd. Vétér. pratique*, 12 avril 1905.
- BOQUET (A). — Sur le bacille de l'entérite paratuberculeuse des bovidés : *Ann. Inst. Pasteur*, 1928, T. XLII, p. 495.
- BORDET (J.). — Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses : Masson et C^{ie}, éditeurs, Paris, 1920.
- BRIN. — Der Komplementbindungsmechanismus bei der Bordet-Gengou. Reaktion auf Rotz : *Z. für Immunitätsforsch.* 1927, T. LI, p. 392.
- BROCQ-ROUSSEU, FORGEOT et URBAIN (Ach.). — Sur la formation des anticorps à la suite des injections de malleine : *Ann. Inst. Pasteur*, déc. 1921, p. 879.
- Apparition d'anticorps chez le lapin soumis à l'ingestion de malléine : *C. R. Soc. Biol.*, 1 déc. 1923, p. 1104.
- Sur la formation des anticorps à la suite des injections de malléine chez le mulet : *Ann. Inst. Pasteur*, mai 1924, p. 420.
- BUXTON. — The effect of an injection of mallein on the serum diagnosis of glanders : *The Veterinary Record*, 11 avril 1914, p. 654.
- The temperature required for the inactivation of mule blood for the complement fixation test for glanders : *Veterinary Journ.*, juillet 1917.

- CABAYÉ, COLLE et LAMARQUE. — Contribution à l'étude clinique de la morve chez le mulet : *Rev. génér. Méd. Vétér.*, 15 février 1919, p. 65.
- CALMETTE (A) et MASSOL (L). — Détermination du pouvoir antigène des diverses tuberculines et titrage des sensibilisatrices ou anticorps des sérums des tuberculeux : *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXII, 6 janv. 1912, p. 15.
- CÉSARI. — in Rapport sur les opérations du service vétérinaire sanitaire de la Seine pendant l'année 1910, p. 217.
- CIUCA. — Anticorps antimalléiniques et fixation du complément dans l'hypersensibilisation par la malléine : *C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, 1910, p. 77.
- COURMONT (J) et PANISSET (L). — Précis de microbiologie des maladies infectieuses des animaux : *O. Doin et Fils, éditeurs*, Paris, 1914.
- DOUVILLE. — De la malléination palpébrale : *Recueil Méd. Vétér.*, t. XCII, 1916, p. 257.
- DROUIN. — Sur la prophylaxie de la morve : *Rev. génér. Méd. Vétér.*, 1914 1915, p. 217.
- DROUIN et NAUDINAT. — L'intra-dermo-malléination : *Rev. génér. Méd. Vétér.*, t. XXIV, 1914, p. 129.
- FAYET. — De l'intra-dermo-malléination palpébrale comme méthode de diagnostic de la morve. *Bull. Soc. Centrale Méd. Vétér.*, 1914-1915.
- FEDDERS. — Théorie et technique de la réaction de Wassermann appliquée à la morve : *Bote f. offent. Vétér.*, Wesen, 1909 (en russe).
- FINZI. — La déviation du complément dans le diagnostic de la morve avec l'alexine hémolytique anti-cheval. : *Rev. génér. Méd. Vétér.*, t. XXIX, 1920, p. 473.
- FONTAINE et LUTGE. — Beitrag zur Spezifitätsfrage der Komplement bindungsmethode bei der Rotzkrankheit : *Zeit. f. Veterinarik.*, 1919, p. 31
- GIESE. — Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt, t. LII, 1920, p. 468.
Zeit. Fleisch und Milchhyg., t. XXX, 1920, p. 185 et 197.
- HAAN (de). — *Berl. tierartzl. Woch.*, 21 juil. 1910.
- KALININ et GINSBURG. — Über das Konsewieren hamo-

- lytischer Sera : *Zeitsch. für Immunität forsch.*, 1927, t. LIII, p. 112.
- KELSER (R. A.) et HARDENBERG (J. C.). — The effect of the intradermic mallein test on subsequent complement fixation test for glanders : *Journal amer. Vét. Méd. Assoc.*, t. LVII, 1920, p. 288.
- KEYSER (F. P.). — Diagnose des Rotzes am Kadaver mittels Komplementbindung : *Centralbl. für Bakter.*, originale, t. XLIX, 26 févr. 1909, p. 459.
- LUHRS (E.). — Rotz : *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*, 1927.
- LECLAINCHE (E.). — Etudes sur la malléine : *Revue vétérinaire*, 1892, p. 465.
- LEGROUX. — Bacillus Withmori : *Cours de Microbiologie de l'Inst. Pasteur*, XX^e leçon, 1928.
- MARCIS. — La valeur diagnostique des procédés d'examen du sang dans la morve : *Allatorvosi Lapok*, 1914, n° 22-24, p. 261 (Thèse inaugurale), in *Rev. génér. Méd. Vétér.*, 1919, p. 568.
- MASSOL et NOWACZINSKI. — Conservation et filtration de l'alexine de sérum de cobaye : *C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX, 19 nov. 1910, p. 431.
- MASSOL et GRYSEZ. — Influence du vieillissement et de la dessiccation sur la conservation de l'alexine du sérum de cobaye : *C. R. Soc. Biol.*, 14 mai 1910, p. 825.
- MIESSNER. — Die Diagnose des Rotzes : *10^e Congrès intern. de Méd. Vétér.*, 1914, p. 496.
- MIESSNER et TRAPP. — Die Komplementbildung beim Rotz und ihre Beziehung zur syphilisreaktion : *Centr. für Bakt.*, t. LII, 1909, p. 115.
- MONVOISIN (A.). — Précis de diagnostic médical : *Vigot frères, éditeurs, Paris*, p. 363.
- MOUILLERON. — Quelques considérations sur l'emploi de la malléine, *Bull. Soc. Centr. Vétér.*, 1914, p. 63.
- NOCARD (E.) et LECLAINCHE (E.). — Les maladies microbiennes des animaux. Masson et C^{ie}, éditeurs, Paris, 3^e édit., 1903. t. II, p. 181.
- NICOLLE (P) et BOQUET (A.). — Eléments de Microbiologie générale et d'Immunologie, *G. Douin et C^{ie}, éditeurs, Paris*, 2^e édit., 1926.

- PANISSET (L). — Nouvelles méthodes de technique bactériologique. Le séro diagnostic de la morve : *Journ. de Méd. Vét. et de Zootechnie*, 1911, p. 27.
- Les nouveaux procédés de diagnostic des maladies infectieuses : *Rev. génér. Méd. Vétér.*, 1909.
- PFEILER. — Zur Rotz diagnose : *Berl. Klin. Woch.*, 1915, p. 1022.
- Beitrag zur Differential diagnose der Rotzkrankheit in pathologisch-anatomischer, oetiologischer und serologischer Beziehung : *Centr. für Bakter.*, t. LXXXIII, 1919, p. 168.
- PFEILER (W) et GRAFE (Fr). — Beitrag zur Feststellung des Wertes polyvalenter Extrakte für die serodiagnose der Rotzkrankheit mittels Komplementablenkung, nebst Beobachtungen über das Schwinden rotzspezifischer ablennder substanzen : *Centr. für Bakter.*, t. LXXXIII, 1919, p. 451.
- PFEILER (W) et WEBER (G). — Ueber die Herstellung von Bacillenextrakten zu Ablenkungszwecken : *Zeit. für Immunitätsf.*, Orig., t. XV, 1912, p. 180.
- PIERRET et BRETON. — Variations du pouvoir alexique des sérums de lapins, gardés à la glacière : *C. R. Soc. Biol.*, t. XCIII, p. 1612.
- PONS. — Existence de la mélioïdose en Cochinchine. Etude de l'agent étiologique : *Bacillus pseudomalléi* (Whitmore 1913) ; *Bacillus whitmori* (Stanton et Fletcher 1925), *Ann. Inst. Past.*, 1927, t. XXXXI, p. 1338.
- POPPE. — *Berl. tierartz. Woch.*, t. XXXV, 1919, p. 173.
- POVITSKY (Olga R.). — Prompt macroscopic agglutination in the diagnosis of glanders : *Journ. of Immunol.*, t. III, nov. 1918, p. 463.
- FOURQUIER. — Nouvelle méthode d'atténuation du virus de la variole ovine. *C. R. Acad. des Sciences*, t. CIV, 1887, p. 703.
- REVERDIN (A) et GRUMBACH (A). — Contribution à l'étude de la morve chronique. Un virus paramorveux : *Ann. de Méd.*, t. XV, n° 1, janv. 1924.
- ROBINSON (E. M.). — The value of the complement fixation test in the routine of the diagnosis of glanders : *Reports of the Director of Veterinary researches*, avril 1918, Le Cap, 1920.

- SCHNEIDER. — *Schweizer archiv für Tierheilk.*, mai 1916, p. 214.
- SCHUBERT. — Über die Bedingungen zur exakten Anwendung der Komplementablenkungsmethode : *Archiv. für wissensch. u. prakt. Tierheilk.*, Bd XXXV, 1909.
- SCHUTZ. — Die diagnose der ansteckenden Tierkrankheiten mittels der neueren Immunitätsreaktionen : *IX Intern. tierarztl. Kongress im Haag*, 1909.
- SCHUTZ et SCHUBERT. — Die Ermittlung der Rotzkrankheit mit Hülfe der komplementablenkungsmethode : *Arch. f. wissensch. und prakt. Tierheilk.*, t. XXXV, livre 1 et 2, janv. 1909.
- SCOTT (W. M.). — *The veterinary Record*, 9 oct. 1915, p. 161.
- SHIRNOFF (A. J.). — Valeur de la réaction de fixation pour le diagnostic de la morve : *Russky. Wratsch.*, 1909.
- SIMPSON (G.). — *The veterinary Record*, 6 janv. 1912, p. 417-430.
- STANTON et FLETCHER. — Melioidosis, a disease of rodents communicable to man : *The Lancet*, t. CCVIII, 1925, p. 10.
- STANTON et FLETCHER. — Melioidosis and its relation to glanders : *Journ. of Hygiène*, t. XXIII, 1925, p. 347.
- STANTON, FLETCHER et SYMONDS. — Melioidosis in a horse : *Journ. of Hygiène*, t. XXVI, 1927, p. 33.
- URBAIN (Ach.). — La réaction de fixation appliquée au diagnostic de certaines maladies microbiennes ou parasitaires communes à l'homme et aux animaux : *Thèse vétérin.* Paris, 1927.
- VALENTI. — Beitrag zur Diagnose des Rotzes durch die komplementablenkung : *Zeit. f. Immunitätsf.*, Bd II, 1909, p. 98.
- VALLÉE. — Sur l'accoutumance à la tuberculine : *Rev. gén. Méd. Vétér.*, t. 2, août 1904, p. 161 et *Ann. Inst. Past.*, 1904.
- VERGE (J.). — Les Maladies communes à l'homme et aux animaux. La Mélioirose : *Rev. génér. Méd. vétér.*, t. XXXVII, 1928, p. 623.

VERGE (J) et PAIREMAURE (O). — Morve et Mélioïdose. La réaction de fixation, dans la morve, au moyen de l'antigène à *Bacillus Whitmori* : *C. R. Soc. Biol.*, t. XCIX, 1928 p. 182.

WLADIMOROFF. — Malleus ; in Kolle et Wassermann : *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*, t. V., 1913, p. 1162.

ZURKAN. — La formation d'anticorps spécifiques dans le sang du cheval sous l'action de l'antigène morveux : *Diss., Kharkoff*, 1911.

